

**Francyne Carolina dos Santos Vieira**

**Toxicidade de Hidrocarbonetos Monoaromáticos do  
Petróleo sobre *Metamysidopsis elongata atlantica*  
(Crustacea: Mysidacea).**

Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Engenharia Ambiental da  
Universidade Federal de Santa  
Catarina, como requisito parcial para  
obtenção do título de Mestre em  
Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. William Gerson Matias

**Florianópolis**

**2004**

Vieira, Francyne Carolina dos Santos

**Toxicidade de Hidrocarbonetos Monoaromáticos do Petróleo sobre  
*Metamysidopsis elongata atlantica* (Crustacea: Mysidacea).**

Francyne Carolina dos Santos Vieira. – Florianópolis, 2004.

ix, 72f.

Tese (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de  
Pós-Graduação em Engenharia Ambiental.

Título em inglês: Petroleum Monoaromatic Hydrocarbons Toxicity in  
*Metamysidopsis elongata atlantica* (Crustacea: Mysidacea).

1. teste de toxicidade. 2. misidáceo. 3. hidrocarbonetos do petróleo.

*Ao Fernando pelo amor  
e pela espera.*

## AGRADECIMENTOS

Ao prof. Dr. William Gerson Matias, pela oportunidade e orientação. Aos membros da banca examinadora, prof. Dr. Henry Xavier Corseuil e prof. Dr. Afonso Celso Dias Bainy.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos. Ao Programa de Pós Graduação em Engenharia Ambiental, professores e funcionários.

Ao Fernando, que aguardou ansiosamente pelo fim deste mestrado.

À Bi, que me puxou para Florianópolis, e aos amigos que fiz na ilha: Alessandra, Dariana, Fiorella, Íria, Kalinka, Thaís, Priscilla, Juliana, Ana, Eliane, Nico, Clarissa, Luiz, Renata, Carlos, Maurício, Fabrício, Beatriz, Fabíola, Flávio, Clóvis, Jeferson, Tuco, Lelo, Muleka, Mau Mau, Tati, Valter, pela amizade e alegrias compartilhadas. Sem vocês esses dois anos e meio na ilha não teriam sido tão bons!

Aos amigos do Laboratório de Toxicologia Ambiental, Cátia, Vanessa, Anderson, Fabrício, Marília, Leo, Débora, muito obrigado!

Aos tripulantes do Navio de Pesquisa Soloncy Moura, Seu Pedro, Abel, Mazinho, Montanha, Luiz, Celso, Deoclésio e Ademar, e ao IBAMA, que me proporcionaram dias de calma e de tempestade no mar.

Aos amigos de faculdade que tanto me ajudaram no começo deste trabalho: Luiz Henrique, Luiz Felipe e Luciano, valeu as dicas!

À minha mãe, que continuou acreditando em mim e me dando apoio. Ao meu pai, pelas longas conversas ao telefone.

E finalmente à Ilha de Santa Catarina, por suas belas praias, das quais desfrutei o máximo possível durante minha estada.

## SUMÁRIO

|                                                                |      |
|----------------------------------------------------------------|------|
| LISTA DE FIGURAS .....                                         | v    |
| LISTA DE TABELAS .....                                         | vii  |
| RESUMO.....                                                    | viii |
| ABSTRACT .....                                                 | ix   |
| 1. INTRODUÇÃO .....                                            | 1    |
| 2. OBJETIVOS .....                                             | 6    |
| 2.1. Objetivo geral .....                                      | 6    |
| 2.2. Objetivos específicos .....                               | 6    |
| 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....                                  | 7    |
| 3.1 A poluição marinha por petróleo.....                       | 7    |
| 3.2. O petróleo, seus constituintes e características.....     | 12   |
| 3.3. O comportamento do óleo no mar .....                      | 17   |
| 3.4. Testes de toxicidade.....                                 | 22   |
| 3.5. Organismo-teste .....                                     | 24   |
| 4. MATERIAL E MÉTODOS .....                                    | 30   |
| 4.1. Coleta dos organismos .....                               | 30   |
| 4.2. Manutenção dos organismos em laboratório.....             | 32   |
| 4.3. Testes de toxicidade com substâncias de referência .....  | 35   |
| 4.4. Testes de toxicidade com benzeno e tolueno .....          | 38   |
| 5. RESULTADOS.....                                             | 40   |
| 5.1. Cultivo de <i>Metamysidopsis elongata atlantica</i> ..... | 40   |
| 5.2. Testes de toxicidade com substâncias de referência .....  | 42   |
| 5.3. Testes de toxicidade com benzeno e tolueno .....          | 46   |
| 6. DISCUSSÃO .....                                             | 48   |

|                              |           |
|------------------------------|-----------|
| <b>7. CONCLUSÕES .....</b>   | <b>56</b> |
| <b>8. RECOMENDAÇÕES.....</b> | <b>57</b> |
| <b>9. BIBLIOGRAFIA .....</b> | <b>58</b> |
| <b>ANEXO.....</b>            | <b>68</b> |

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                      |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1: Fórmulas estruturais de alguns compostos monoaromáticos do petróleo.....                   | 15 |
| Figura 2: Comportamento de uma mancha de óleo no mar. ....                                           | 18 |
| Figura 3: Processos físico-químicos sofridos por uma mancha de óleo no mar no decorrer do tempo..... | 22 |
| Figura 4: <i>Metamysidopsis elongata atlantica</i> .. ....                                           | 27 |
| Figura 5: <i>Metamysidopsis elongata atlantica</i> - macho adulto.....                               | 28 |
| Figura 6: Localização geográfica do Município de Navegantes.....                                     | 30 |
| Figura 7: Exemplar de <i>Metamysidopsis elongata atlantica</i> .....                                 | 32 |
| Figura 8: Aquários de cultivo de <i>Metamysidopsis elongata atlantica</i> .....                      | 34 |
| Figura 9: Exemplar de <i>Artemia sp.</i> ....                                                        | 34 |
| Figura 10: Kit para Eclosão de <i>Artemia sp.</i> .....                                              | 35 |
| Figura 11: Estufa Incubadora com fotoperíodo onde foram conduzidos os bioensaios de toxicidade.....  | 36 |
| Figura 12: Variação da sensibilidade de <i>M. e. atlantica</i> ao zinco no decorrer do tempo.....    | 43 |
| Figura 13: Variação da sensibilidade de <i>M. e. atlantica</i> ao cobre no decorrer do tempo.....    | 44 |
| Figura 14: Curva dose-resposta dos testes de sensibilidade de <i>M. e. atlantica</i> ao zinco. ....  | 45 |
| Figura 15: Curva dose-resposta dos testes de sensibilidade de <i>M. e. atlantica</i> ao cobre.....   | 45 |

**Figura 16: Curva dose-resposta dos testes de sensibilidade de *M. e. atlantica* ao benzeno..... 47**

**Figura 17: Curva dose-resposta dos testes de sensibilidade de *M. e. atlantica* ao tolueno..... 47**



## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1: Propriedades físico químicas para benzeno e tolueno. ....                                                               | 14 |
| Tabela 2: Sumário das condições de cultivo de <i>Metamysidopsis elongata atlantica</i> em laboratório (GAMA & ZAMBONI, 1999)..... | 33 |
| Tabela 3: Resumo da metodologia empregada nos testes de toxicidade com metais.....                                                | 37 |
| Tabela 4: Resultados da CL50(96h) obtidos nos testes agudos com zinco e cobre conduzidos com <i>M. e. atlantica</i> . ....        | 42 |
| Tabela 5: Resultados da CL50(48h) obtidos nos testes agudos com benzeno e tolueno conduzidos com <i>M. e. atlantica</i> .. ....   | 46 |
| Tabela 6: Comparação entre a sensibilidade de cinco espécies de misidáceos ao zinco.....                                          | 51 |
| Tabela 7: Comparação entre a sensibilidade de três espécies de misidáceos ao cobre.....                                           | 51 |

## RESUMO

O petróleo é uma mistura complexa de inúmeros compostos orgânicos, com predominância de hidrocarbonetos, e sua composição varia de acordo com a sua procedência. Em acidentes com derrames de óleo ou outros subprodutos do petróleo no mar, uma vez que os compostos mais tóxicos são os constituintes mais solúveis e voláteis, o impacto químico é maior nos primeiros dias após o derramamento. Normalmente em poucos dias, a concentração de grande parte dos agentes de maior toxicidade já foi intensamente reduzida pelo intemperismo. O contato dos organismos com frações tóxicas do óleo pode levar à morte por intoxicação, especialmente associada às frações de compostos aromáticos. Entre os componentes mais tóxicos estão o benzeno, tolueno e xilenos. Estas substâncias apresentam considerável solubilidade em água (especialmente o benzeno), o que torna os organismos marinhos mais vulneráveis uma vez que absorvem estes contaminantes pelos tecidos, brânquias, por ingestão direta da água ou de alimento contaminado. Os hidrocarbonetos de baixo peso molecular apresentam intenso efeito tóxico agudo, principalmente devido a sua elevada solubilidade e conseqüente biodisponibilidade. O objetivo deste trabalho foi estudar a toxicidade aguda de dois destes hidrocarbonetos monoaromáticos, benzeno e tolueno, separadamente, sobre um microcrustáceo marinho, em bioensaios do tipo estático aberto sem renovação. A espécie testada foi *Metamysidopsis elongata atlantica*, cuja metodologia de cultivo foi desenvolvida no Laboratório de Toxicologia da UFSC. Os misidáceos têm sido amplamente utilizados em testes de toxicidade com água marinha, e a espécie escolhida é representante do Litoral Catarinense. Os resultados mostraram que CL50(48h) para benzeno e tolueno foram, respectivamente, 95,5 µg/l e 235,7 µg/l. Apesar de não haver valores máximos permitidos de ambos os compostos para as classes de águas salgada e salobra definidas pela Resolução nº 20 do CONAMA (1986), os valores encontrados estão acima dos padrões exigidos pela mesma Resolução para as classes de água doce (0,01 mg/l para benzeno) e pela Portaria 518 do Ministério da Saúde (2004) para potabilidade de água (5 µg/l para benzeno e 0,17 mg/l para tolueno).

## ABSTRACT

Crude oil consist of thousands of chemical compounds, a complex mixture of organic compounds, with predominance of hydrocarbons, and its composition varies conform its origin. In oil spills accidents or by oil products in the sea, the most toxic compounds are the constituents most volatile and soluble and the chemical impact is bigger in the first days after the spilling. Normally in few days, a great part of the concentration agents with higher toxicity was already intensely reduced by the intemperism. The contact of organisms with oil toxic fractions, can lead to the death for poisoning, especially associated to the aromatic fractions. The most toxic components are the benzene, toluene and xilenes. These substances present considerable solubility in water (especially the benzene), this becomes marine organisms more vulnerable along time for the absortion of these contaminants by skin, gills, or direct ingestion of the contaminated water or food. The low molecular weight hydrocarbons present intense acute toxic effect, mainly because of its raised solubility and consequent biodisponibility. The objective of this work was to study the acute toxicity of two of these monoaromatical hydrocarbons, benzene and toluene, separately, on a marine microcrustacean, in bioassays of the opened static type without renewal. The tested species was *Metamysidopsis elongata atlantica*, whose methodology of culture was developed in the Toxicology Laboratory of the UFSC. The mysid shrimp have been widely used in tests of toxicity with seawater, and the chosen species is representative of the Santa Catarina Coast. The results had shown that CL50(48h) for benzene and toluene had been, respectively, 95.5 µg/l and 235.7 µg/l. Although the Resolution n° 20 of the CONAMA (1986) do not define maximum values allowed of both composites for saltwater class, the joined values are above of the standards demanded for the same Resolution in the case of freshwater class (0.01 mg/l for benzene) and for The Health Department Governmental Regulation 518 (2004) in the case of drinking water class (5 µg/l for benzene and 0.17 mg/l for toluene).

## 1. INTRODUÇÃO

O acúmulo de substâncias no ambiente marinho tem causado efeitos tóxicos para a biota e desequilíbrio no ecossistema. Os compostos tóxicos diariamente despejados nos mares contribuem para a degradação do meio. Existe uma crescente preocupação com relação à qualidade das águas costeiras, no sentido de proteger as comunidades que nelas habitam, e isto tem motivado a criação de programas de gestão e manejo nestas áreas. Estudos da comunidade científica estão voltados para as questões ambientais, a fim de respaldar medidas de controle e correção de eventos adversos.

As descargas acidentais de petróleo e seus derivados para o mar ganham há tempos as manchetes dos jornais, devido às graves consequências ambientais observadas imediatamente após grandes derramamentos ou pelos custos envolvidos com a recuperação.

As próprias características de muitos óleos, como cor naturalmente escura, reduzida miscibilidade em água, densidade menor do que a mesma e odor forte, entre outras, conferem a muitas descargas acidentais de óleo no mar o aspecto de manchas capazes de sujar praias e artefatos de pesca, inviabilizando por algum tempo sua utilização. Além disso, manchas de óleos afetam particularmente aves marinhas e também ecossistemas entre os mais produtivos, como manguezais e recifes de coral (GESAMP, 1990).

Os efeitos dos derramamentos de petróleo de grandes proporções ou mesmo crônicos, têm sido estudados em diferentes níveis, desde ecossistemas como um todo até nos processos fisio-metabólicos mais específicos, observando-se que os danos biológicos aos organismos aquáticos são função de sua persistência espaço-temporal, biodisponibilidade de hidrocarbonetos, habilidade de cada grupo em acumular e capacidade dos contaminantes de interferirem no metabolismo normal destes organismos ou comunidades (GESAMP, 1993).

O contato dos organismos com frações tóxicas do óleo pode levar à morte por intoxicação, especialmente associada às frações de compostos aromáticos. Entre os componentes mais tóxicos estão o benzeno, tolueno e

xilenos. Estas substâncias apresentam considerável solubilidade em água (especialmente o benzeno), o que torna os organismos marinhos mais vulneráveis uma vez que absorvem estes contaminantes pelos tecidos, brânquias, por ingestão direta da água ou de alimento contaminado. Os hidrocarbonetos de baixo peso molecular apresentam intenso efeito tóxico agudo, principalmente devido a sua elevada solubilidade e conseqüente biodisponibilidade (GESAMP, 1993).

Os BTEXs (sigla para o conjunto benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos), freqüentemente matam o meroplâncton, ictioplâncton ou outros estágios de vida de organismos a eles expostos na coluna d'água, mesmo em concentrações inferiores a 5mg/l. Em adição a ação tóxica dos hidrocarbonetos do petróleo e outros componentes químicos, a poluição por óleo pode fisicamente sufocar os organismos marinhos (KENNISH, 1997b).

As análises químicas, que até meados da década de 80 foram absolutas como forma de caracterizar os poluentes lançados ao ambiente e que serviam como base dos padrões para a legislação ambiental, por si só não são capazes de avaliar a toxicidade desses compostos sobre os organismos (BERTOLETTI, 1990a). Elas tampouco podem precisar em que frações cada substância pode estar disponível para exercer um efeito tóxico sobre os organismos (BERTOLETTI, 1990b), pois, uma vez no ambiente, ocorrem inúmeras interações entre os compostos químicos de origem antropogênica, ou não, presentes no local resultando nas mais diferentes formas de ação sobre as comunidades expostas (COSTA, 1997).

Devido a isso, a toxicologia aquática através dos testes de toxicidade surgiu como uma alternativa técnica confiável para prever o impacto de agentes contaminantes sobre as diversas comunidades do ambiente hídrico. RAND *et al.* (1995) define Toxicologia Aquática como o estudo dos efeitos de produtos químicos e outros materiais e atividades antropogênicas e naturais (coletivamente nomeados agentes ou substâncias tóxicas) sobre organismos aquáticos em vários níveis de organização, desde o subcelular até uma comunidade ou ecossistema. Segundo os autores os efeitos podem causar mudanças tanto positivas quanto negativas das circunstâncias existentes num

dado momento, mas a toxicologia enfoca principalmente as modificações que são consideradas adversas, e que deveriam cessar assim que a exposição aos agentes tóxicos terminasse.

Realizados em laboratório ou diretamente em campo, “os testes de toxicidade (ou bioensaios) podem encerrar desde o princípio mais básico das curvas “dose-resposta” e observação de modificações comportamentais, fisiológicas e letalidade, até enfoques mais sofisticados como alterações bioquímicas, genéticas ou teratogênicas” (ZAMBONI, 2000). Os efeitos passíveis de serem observados são numerosos e dependem das características de cada método empregado, da biologia da espécie-teste, do tipo de composto avaliado e do objetivo de cada estudo (ZAMBONI, 1993). Os bioensaios podem ainda ser realizados com água, sedimentos, efluentes, produtos químicos puros e com indivíduos, populações ou comunidades animais e vegetais como um todo, buscando sempre as respostas mais rápidas, precisas, de fácil interpretação e que sejam correlacionáveis com outros meios de avaliação ambiental (ZAMBONI, 2000).

Os estudos de toxicologia aquática envolvendo organismos dulciaquícolas são dominantes na literatura, e surgiram em meados do século passado, a princípio testando peixes e invertebrados. O Laboratório de Toxicologia Ambiental (LabTox) da Universidade Federal de Santa Catarina vem desde 1997 pesquisando a toxicidade de xenobióticos e efluentes domésticos e industriais sobre organismos aquáticos, com ênfase em espécies de água doce como peixes e microcrustáceos. BAPTISTA (2001) utilizou *Daphnia magna*, *Poecilia reticulata* e *Vibrio fischeri* para avaliar a toxicidade de efluentes têxteis. Com relação ao cladócero *Daphnia magna*, outros trabalhos foram realizados no LabTox. FINKLER (2002) estudou os efeitos tóxicos de lixiviados provenientes de aterros sanitários sobre as daphnias, FRELLO (1998) usou o mesmo organismo para avaliar a toxicidade aguda do agrotóxico Carbofuran, e LAITANO (2003) estudou a eficiência de um reator anaeróbico na remoção da toxicidade de lixiviados sobre o microcrustáceo.

A maior parte das substâncias químicas alcança, direta ou indiretamente, o ecossistema marinho, especialmente porque muitos dos

grandes centros urbanos do planeta estão localizados no litoral. Com a água do mar cobrindo mais de 70% da superfície da Terra, e com a vasta diversidade de plantas e animais encontrados em estuários e mar aberto, a avaliação toxicológica dos efeitos dessas substâncias em organismos marinhos e estuarinos é essencial para a manutenção da biodiversidade e da própria espécie humana.

Apesar da importância e extensão do ambiente costeiro, a preocupação com a proteção do ecossistema marinho é recente no Brasil. São ainda restritas as espécies marinhas para as quais as normas são padronizadas. Os organismos mais utilizados são os microcrustáceos *Artemia* sp. (Norma Técnica L5.021, CETESB, 1987), *Mysidopsis juniae* (Norma Técnica L5.251, CETESB, 1992a) e os embriões do equinodermo *Lythechinus variegatus* (Norma Técnica L5.250, CETESB, 1992b). No entanto, outras espécies vêm sendo testadas, tais como embriões da ostra *Crassostrea rhizophorae* (NASCIMENTO, 2002) e do mexilhão *Perna perna* (ZARONI, 2002), o misidáceo *Mysidium gracile* (BADARÓ-PEDROSO *et al.*, 2002), os copépodos *Acartia lilljeborgi* e *Temora stylifera* (NIPPER, 2002), o anfípodo *Tiburonella viscana* (MELO & ABESSA, 2002), e o tanaidáceo *Kalliapseudes shubartii* (ZAMBONI & COSTA, 2002).

Observando a importância de se desenvolver metodologias de testes de toxicidade com organismos marinhos, o presente trabalho teve como objetivo implantar uma rotina de bioensaios com o misidáceo *Metamysidopsis elongata atlantica* no LabTox, preocupando-se com a contaminação crescente de compostos aromáticos no ambiente costeiro.

Espécies da ordem Mysidacea são animais que ocorrem em grande número desde regiões costeiras até grandes profundidades em todo mundo (MAUCHLINE, 1980). A significância deste grupo reside na sua posição nas cadeias tróficas, ocupando um lugar importante no seu ambiente, pois constituem um dos componentes da dieta de várias espécies de peixes, muitas delas utilizadas para consumo humano. Como os peixes acumulam em seus tecidos os produtos tóxicos advindos do alimento, qualquer contaminação dos misidáceos pode acarretar sérias conseqüências para o ecossistema. Além

disso, devido ao comportamento de forte migração vertical da maioria das espécies, os misidáceos possuem um potencial de rápido transporte de tóxicos da superfície para os sedimentos marinhos e vice-versa (EVANS *et al.*, 1982).

Ainda que exista em todo o mundo uma crescente produção científica sobre os danos da contaminação por hidrocarbonetos aos ecossistemas, a documentação sobre seus impactos na costa brasileira é bastante reduzida. O maior número de estudos concentram-se na região Sudeste do país (ZAMBONI, 1993; REYNIER, 1995; ZANARDI, 1996; BADARÓ-PEDROSO, 1999). Apesar de a região Sul também possuir refinarias de petróleo, terminais de transporte, e ser palco de acidentes, não estão disponíveis publicações que reportem à poluição por hidrocarbonetos na costa.



## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo geral

Avaliar a toxicidade aguda de dois hidrocarbonetos monoaromáticos do petróleo sobre o misidáceo *Metamysidopsis elongata atlantica*, através de bioensaio.

### 2.2. Objetivos específicos

- Implantar um cultivo de laboratório da espécie selecionada *Metamysidopsis elongata atlantica* no LabTox;
- Determinar as concentrações letais medianas (CL50) para o benzeno e o tolueno em sistema estático aberto.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 A poluição marinha por petróleo

As questões de ordem ambiental vêm se caracterizando como uma das preocupações mais prementes em nível mundial, à medida que a humanidade vem sentindo os reflexos das condutas e atividades predatórias adotadas como base da economia e do desenvolvimento, especialmente os efeitos nocivos da poluição, que se caracterizam como um dos principais problemas a ser gerenciado na atualidade. Os danos ambientais têm tomado proporções globais, envolvendo uma vasta gama de interesses e posições, e “é cada vez mais evidente que as origens e causas da poluição são muito mais difusas, complexas e interrelacionadas e seus efeitos muito mais disseminados, cumulativos e crônicos do que se julgara até então. Os problemas de poluição antes localizados, agora se apresentam em escala regional ou mesmo global” (CMMD, 1988 *apud* SIQUEIRA & DIEHL, 2000).

Com o objetivo de estabelecer regras de direitos e deveres, com o fim de proteger o ambiente da poluição, os Estados realizaram as Convenções Internacionais, pretendendo observar, medir, avaliar e analisar, mediante métodos científicos reconhecidos, os riscos ou efeitos da poluição no meio marinho. Assim, no ano de 1991, o Programa das Nações Unidas sobre o Meio Ambiente (PNUMA), registrou 152 tratados multinacionais de proteção ao meio ambiente. Dentre estes, são enumerados as Convenções Internacionais que tratam de poluição marítima em vigor no Brasil:

- 1) Convenção Internacional para a Prevenção da Poluição do Mar por Óleo (Londres, 12 de maio de 1954). Esta convenção é o primeiro tratado de defesa do meio ambiente, ou mais precisamente, contra a poluição. Com a finalidade de unificar a consciência ecológica, e trazer a discussão aos Estados-Partes, dos danos que a poluição pode causar ao meio ambiente, estabelece-se regras para unificar o uso do mar. Em 1962 e 1969 houve convenções que revisaram, modernizaram as regras devido

ao crescimento do tráfego marítimo e conseqüente aumento da poluição (SIQUEIRA & DIEHL, 2000).

- 2) Convenção sobre a Intervenção em Alto Mar no caso de Incidente que Cause ou Possa Causar Poluição por Hidrocarbonetos (Bruxelas, 29 de novembro de 1969). O crescente transporte marítimo de navios contendo petróleo fez com que o objetivo desta convenção fosse estabelecer critérios às partes contratantes para o transporte seguro deste mineral pelos oceanos (IMO, 2003).
- 3) Convenção sobre Responsabilidade Civil por Danos Causados por Poluição do Mar por Óleo (Bruxelas, 29 de novembro de 1969). Esta convenção conceitua dano por poluição como perda ou dano, causado fora do navio, transportador de óleo, por contaminação resultante de um derrame ou descarga de óleo do navio onde quer que possa ocorrer esse derrame ou descarga (SIQUEIRA & DIEHL, 2000).
- 4) Convenção sobre a Prevenção da Poluição Marinha pelo Alijamento de Dejetos e outros Materiais (Londres, 29 de dezembro de 1972). Considera-se resíduos ou outras substâncias, de qualquer classe, forma ou natureza, referindo-se a resíduos e substâncias que possam causar poluição (IMO, 2003).
- 5) Convenção Internacional para a Prevenção da Poluição Causada por Navios (MARPOL 73/78) (Londres, 2 de novembro de 1973). Procuraram, as Partes da Convenção, preservar de um modo geral, o ambiente em que vive o homem e em particular, o ambiente marinho, reconhecendo que despejos de óleo e de outras substâncias nocivas, ocorridas deliberadamente, por negligência ou acidentalmente, constituem uma séria fonte de poluição. Em 1978 outra convenção revisou e adotou novas regras com base na convenção de 1973 (IMO, 2003).

- 6) Convenção das Nações Unidas sobre o Direito do Mar (Montego Bay, 10 de dezembro de 1982). Dispõe sobre o alto mar, o jurisdicional, a preservação do meio marinho e a regulamentação dos litígios. A convenção conceitua poluição do meio marinho como “a introdução pelo homem, direta ou indiretamente, de substância ou energia no meio marinho, incluindo os estuários, sempre que a mesma provoque ou possa provocar efeitos nocivos, tais como danos aos recursos vivos e à vida marinha, riscos à saúde do homem, entraves às atividades marítimas, incluindo a pesca e as outras utilizações legítimas do mar, alteração da qualidade da água do mar, no que se refere à sua utilização, e deterioração dos locais de recreio” (JURAS, 2002).

O resumo feito acima denota uma crescente preocupação internacional pelos assuntos do mar, e em particular, pela poluição por óleos. Nos últimos anos, a contaminação em diversas regiões costeiras tem se intensificado, principalmente com o crescimento das indústrias e o desenvolvimento urbano. Isso tem levado, entre outras conseqüências, a um maior e intenso aporte de esgotos urbanos e uma maior introdução de hidrocarbonetos no ambiente, em função do aumento do consumo de derivados de petróleo. Assim, se fazem necessários estudos com o objetivo de prevenir e monitorar contaminações em regiões costeiras a fim de compreender os processos de introdução e o comportamento de contaminantes no ambiente marinho. Dentre as numerosas formas de introdução destes compostos no ambiente marinho, destacam-se (UNEP, 1991):

Principais formas naturais de aporte:

- Infiltrações naturais através de fendas nos fundos oceânicos;
- Biossíntese por organismos (vegetais e animais) marinhos ou terrestres;
- Transformações diagenéticas de produtos biossintéticos, principalmente nos sedimentos ou na coluna d'água;
- Trocas atmosféricas;
- Erosão de sedimentos continentais.

Principais formas antrópicas de aporte:

- Combustão incompleta durante as queimadas de florestas e campos, posteriormente transportado para o ambiente marinho via processos eólicos ou fluviais;
- Efluentes domésticos e industriais;
- Exploração e produção de petróleo;
- Combustão parcial de combustíveis como gás, carvão mineral, óleo e madeira, para transporte, aquecimento e geração de energia;
- Transporte de petróleo em operações com navios, carga e descarga em terminais petrolíferos;
- Acidentes com petroleiros.

A indústria do petróleo vem crescendo progressivamente desde a década de trinta do século passado. Foram descobertos novos campos petrolíferos, aperfeiçoadas as explorações submarinas; construídos superpetroleiros transoceânicos, inaugurados terminais de carga e descarga de petróleo e derivados, refinarias e oleodutos interestaduais e internacionais. Conseqüentemente, foi sendo liberado cada vez mais petróleo, seus derivados e resíduos oleosos ao meio ambiente, provenientes dos motores e das lavagens de tanques de navios cargueiros, petroleiros e pesqueiros, da descarga de água de lastro, e os vazamentos provenientes das operações de carga e descarga nos portos e terminais.

Os pequenos vazamentos, provenientes do transporte marítimo representam cerca de 98% das perdas totais de petróleo e derivados, e são considerados "normais" por vários autores enquanto que as perdas acidentais, que correspondem aos 2% restantes, contribuíram com o lançamento de, aproximadamente, 400.000 ton./ano de óleo (IPIECA, 1991).

Mas são os grandes vazamentos que mais chamam a atenção da maioria das pessoas. O primeiro caso conhecido envolveu o encalhe do navio Torrey Canyon, em 1967, com 123.000 ton de óleo derramadas, atingindo a zona costeira da Inglaterra e da França, causando mortandade de aves e prejuízos à pesca e ao turismo (CETESB, 2003). Em 1978 ocorreu o encalhe

do navio Amoco Cadiz, também na costa da Inglaterra, com liberação de 230.000 ton de óleo ao mar, que provocaram um grande desastre ambiental. Em 1983, foi a vez do vazamento do navio Castillo de Belver, na África do Sul, com 260.000 ton derramadas e em 1989, o Exxon Valdez, no Alasca (40.000 ton), entre outros (d'AVIGNON, 1993).

Um dos casos mundiais mais recentes foi o desastre do petroleiro Prestige, de origem libanesa mas administrado por uma empresa grega, que cumpria a rota Letônia-Gibraltar com 77 mil toneladas de óleo quando enfrentou uma tempestade a 45 km da região de Fisterra, no nordeste da Espanha. No dia 13 de novembro de 2002, após sofrer avarias, a tripulação pediu ajuda da Guarda Costeira espanhola, que usou helicópteros para resgatar os marinheiros. No mesmo dia, as primeiras manchas negras foram avistadas no mar, as quais atingiram as praias no dia 17 (FOLHA ONLINE, 2003).

Durante uma operação de rebocagem, o navio não resistiu e partiu-se em dois, afundando no Oceano Atlântico. Atualmente encontra-se a 3.500 m de profundidade, a cerca de 270 km da costa da Galícia. Mais de 47 mil toneladas de óleo já foram recolhidas do mar e de terra firme desde o naufrágio (FOLHA ONLINE, 2003).

No Brasil, o primeiro grande episódio conhecido ocorreu em agosto de 1974, quando o petroleiro Takimya Maru chocou-se com uma rocha no Canal de São Sebastião, litoral norte de São Paulo, causando o vazamento aproximado de 6.000 ton. No ano seguinte, em março de 1975, no Rio de Janeiro, ocorreu o acidente com o navio Tarik Ibn Ziyad, envolvendo o derramamento do mesmo volume de óleo na Baía de Guanabara. Existem relatos de pequenos vazamentos em 1955, também em São Sebastião, quando se fazia o transbordo de petróleo de navios maiores para os menores, os quais teriam melhores condições de calado para adentrarem no Porto de Santos (POFFO *et al.*, 1996).

Os casos mais recentes e de grande repercussão no país são de responsabilidade da PETROBRAS, em 2000, quando 1,3 milhão de litros de óleo combustível vazaram na Baía da Guanabara, Rio de Janeiro,

consequência do rompimento de um duto que liga a Refinaria Duque de Caxias ao Terminal da Ilha d'Água. Seis meses depois, 4 milhões de litros de óleo foram despejados nos rios Barigui e Iguaçu, Paraná, devido a uma ruptura da junta de expansão de uma tubulação da Refinaria Presidente Getúlio Vargas. Este último acidente tornou-se o maior desastre ambiental provocado pela companhia brasileira em 25 anos (BRAGA, 2000).

### **3.2. O petróleo, seus constituintes e características**

O petróleo é encontrado naturalmente em determinadas formações geológicas, como as bacias sedimentares com características muito especiais para ocorrer a formação deste mineral (MILANI *et al.*, 2000). É um combustível fóssil, resultante da transformação aeróbia e anaeróbia por bactérias e decomposição da matéria orgânica de plantas aquáticas e animais pré-históricos em condições ambientais favoráveis. O acúmulo dos seres decompostos, ao longo de milhões de anos, no fundo dos mares, lagos e pântanos, transformou-se, sob alta pressão e a temperaturas que não excedem 150°C, nesta substância tão necessária na sociedade atual (PEDROZO *et al.*, 2002; CETESB, 2003).

As principais condições para a formação do petróleo são: existência de matéria orgânica adequada à geração de petróleo; o material orgânico deve ser preservado da ação de bactérias aeróbicas; o material orgânico depositado não deve ser movimentado por longos períodos; a matéria orgânica em decomposição por bactérias anaeróbicas deve sofrer a ação de temperatura e pressão por longos períodos; deve haver um gradiente geotérmico; presença de vida intensa no local (intensa atividade bacteriana), com proteção contra oxidação e contra a destruição bacteriana; tempo; Rocha-fonte (rocha sedimentar); Rocha-reservatório (rocha sedimentar).

O “ouro preto” vem sendo utilizado desde 5.000 anos a. C., pelas antigas civilizações do Egito, Fenícia, Mesopotâmia, Pérsia, China e nas Américas pelos Incas e Astecas (NEIVA, 1986). Segundo a autora, foi empregado para

pavimentar estradas, calafetar construções a exemplo das grandes pirâmides egípcias e do Jardim Suspenso da Babilônia. Foi usado também para aquecer e iluminar casas, embalsamar múmias, construir cisternas, produzir medicamentos, fabricar flechas de fogo e como lubrificante.

Ao longo do tempo, o petróleo foi se impondo como fonte de energia eficaz. A invenção dos motores a gasolina e a diesel, no século XIX, fez com que outros derivados, até então desprezados, passassem a ter novas aplicações. A indústria petroquímica surgiu em 1930, possibilitando a utilização de derivados do petróleo como componentes de explosivos (glicerina e tolueno), matéria sintética para roupas, solventes e medicamentos entre outros, que tiveram muita utilidade na Segunda Guerra Mundial (1939-1945) e que são utilizados até hoje. Centenas de novos produtos foram surgindo, a maioria de uso diário, como plásticos, borrachas sintéticas, tintas, corantes, adesivos, detergentes, cosméticos, alimentos, etc. Deste modo, o único combustível fóssil fluido tornou-se imprescindível para garantir as comodidades da vida cotidiana (PEDROZO *et al.*, 2002).

O petróleo é uma mistura complexa de inúmeros compostos orgânicos, com predominância de hidrocarbonetos, e sua composição varia de acordo com a sua procedência (CLINE *et al.*, 1991). Hidrogênio e carbono são os mais importantes e prevalentes elementos, compondo 98% de certos óleos crus e 100% de muitos produtos refinados (EPA, 1999). Enxofre, nitrogênio e oxigênio são os constituintes menores mais importantes. Há ainda metais traço como vanádio, níquel, sódio, cálcio, cobre e urânio (POSTHUMA, 1997). Produtos refinados como gasolina, diesel, óleos lubrificantes, querosene, óleo combustível contém os mesmos compostos que o petróleo, mas com um intervalo de pontos de ebulição mais restritos (NRC, 1985).

Hidrocarbonetos são compostos orgânicos que contém apenas os elementos carbono e hidrogênio, podendo ser classificados em alifáticos e aromáticos. Compostos aromáticos são o benzeno e os compostos que se assemelham ao benzeno em comportamento químico. Os hidrocarbonetos aromáticos se caracterizam por uma tendência para sofrer substituição heterolítica. Estas reações de substituição são características dos anéis



aromáticos onde quer que eles apareçam, independentemente de outros grupos funcionais que a molécula possa conter (MORRISON & BOYD, 1993).

O benzeno, o hidrocarboneto aromático mais simples, mostra os aspectos estruturais característicos dos compostos aromáticos. Faraday descobriu o benzeno em 1825, e o estudo de sua estrutura tem dado lugar a um dos capítulos mais variados e importantes da química orgânica desde que Kekulé e Couper desenvolveram a primeira teoria estrutural razoável. A fórmula do benzeno,  $C_6H_6$ , indica que o composto é muito insaturado (RICHARDS *et al.*, 1971).

À temperatura ambiente, o benzeno é um líquido volátil, estável e incolor. Tem um cheiro característico e um ponto de ebulição relativamente baixo ( $80,1^\circ C$ ), evaporando-se rapidamente. É altamente inflamável, pouco solúvel em água mas miscível com a maior parte dos solventes orgânicos (ASTM, 1996; SSTA, 2003).

O tolueno, ou metilbenzeno, é um líquido incolor, com odor aromático característico, similar ao do benzeno e altamente inflamável também. A sua pressão parcial e a densidade do vapor em relação ao ar levam-no a ser um solvente com alta volatilidade e os seus vapores a permanecerem em baixas alturas, o que aumenta a penetração pela via respiratória (ASTM, 1996; SSTA, 2003).

Tabela 1: Propriedades físico químicas para benzeno e tolueno.

| Hidrocarboneto | FC       | PF ( $^\circ C$ ) | PE ( $^\circ C$ ) | PM    | Densidade ( $g/m^3$ ) | Solubilidade água $S_w$ , $25^\circ C$ (mg/l) | Pressão de vapor (atm) | Constante de Henry $K_h$ (atm $m^3/mol$ ) | Log $K_{ow}$ $25^\circ C$ | Nº CAS   |
|----------------|----------|-------------------|-------------------|-------|-----------------------|-----------------------------------------------|------------------------|-------------------------------------------|---------------------------|----------|
| <b>Benzeno</b> | $C_6H_6$ | 5,53              | 80,00             | 78,10 | 0,880                 | 1780,00                                       | $1,25 \times 10^{-1}$  | $5,50 \times 10^{-3}$                     | 2,13                      | 71-43-2  |
| <b>Tolueno</b> | $C_7H_8$ | -95,00            | 111,00            | 92,10 | 0,867                 | 515,00                                        | $3,70 \times 10^{-2}$  | $6,60 \times 10^{-3}$                     | 2,69                      | 108-88-3 |

FONTE: Modificado de KULKAMP, 2003.

FC: Fórmula Condensada; PF: Ponto de Fusão; PE: Ponto de Ebulição; PM; Peso Molecular;  $K_{ow}$ : Coeficiente octanol-água; Nº CAS: Número de identificação do *Chemical Abstract System*.

O benzeno é produzido industrialmente a partir da destilação do petróleo bruto, da destilação de hulha e produção de coque e por síntese química a partir de hidrocarbonetos lineares. É utilizado como matéria prima

para síntese de outros compostos orgânicos (estireno, fenóis, ciclohexano, etc.) e como aditivo nos combustíveis para veículos, substituindo, em parte, o chumbo. No passado foi utilizado como solvente em tintas, colas e semelhantes, limpeza a seco, etc. Devido aos seus efeitos tóxicos para a saúde, foi substituído por outros produtos, neste tipo de utilização (SSTA, 2003).

O tolueno é usado na produção do benzeno e outras substâncias, amplamente empregado como solvente para tintas, vernizes, colas, celulose, borracha, óleos, resinas e diversas outras aplicações. Na indústria do petróleo, é utilizado em laboratórios e está presente em derivados, como contaminante (SSTA, 2003).

Os BTEXs (Figura 1) são considerados perigosos por serem potenciais causadores de depressão do sistema nervoso central e também de leucemia (EVANS *et al.*, 1991; CORSEUIL & ALVAREZ, 1996). GAMO *et al.* (2003) organizaram um ranking dos 12 maiores poluentes ambientais que ocorrem no Japão, e classificaram o benzeno como a segunda substância (por ser carcinogênico) e o tolueno como a décima primeira substância em nível de risco para a saúde. Ambos os compostos entram no corpo via inalação. A média do nível de exposição para o benzeno foi determinado em  $3,3 \mu\text{g}/\text{m}^3$  e para tolueno em  $34,2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ .

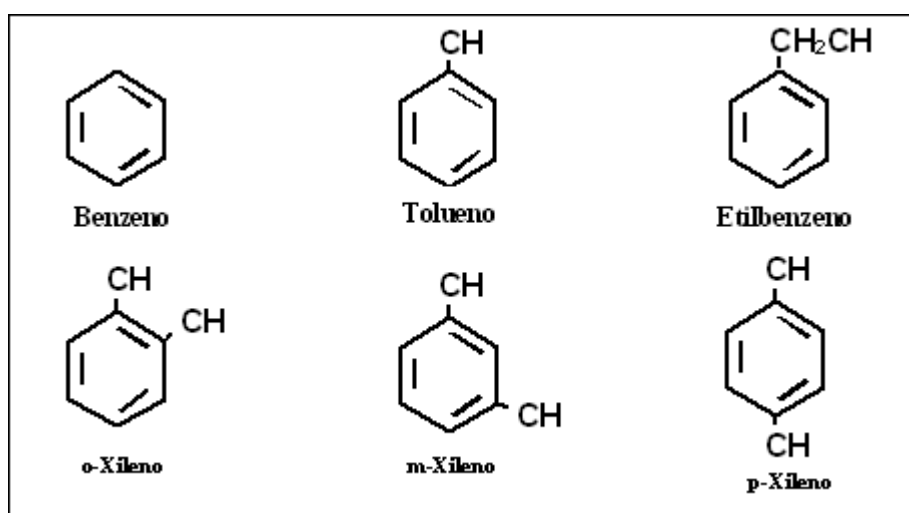


Figura 1: Fórmulas estruturais de alguns compostos monoaromáticos do petróleo.

LEHR (1996) e ELLIOTT (1999) estudando a dispersão atmosférica após derrames de petróleo no mar, chamam a atenção da toxicidade dos compostos voláteis nas primeiras 48 horas sobre os voluntários que ajudam na remoção e limpeza do óleo da superfície da água. Sabe-se que o tolueno é um depressor do sistema nervoso central, mas seu mecanismo de ação ainda não é bem conhecido. Foi observado que ele provoca uma fase inicial de excitação seguida de depressão leve a intensa, semelhante ao que ocorre com o álcool (PEDROZO & SIQUEIRA, 1989).

A toxicidade do benzeno independe da via de introdução, sendo que a principal via de intoxicação ocorre pela inalação dos seus vapores. A absorção via contato dérmico do benzeno na forma gasosa contribui muito pouco para o total da exposição, no entanto, a absorção do benzeno na forma líquida é considerada uma importante rota de exposição (WHO, 1996). Acredita-se que esta alta toxicidade do benzeno está associada à sua ação direta sobre o organismo bem como a de seus produtos derivados da biotransformação, como por exemplo: o benzeno epóxido (resultante da primeira reação de biotransformação), uma substância altamente reativa e instável, e a 1,4-benzoquinona, prováveis responsáveis pela mielotoxicidade do benzeno (SALGADO & PEZZAGNO, 1991).

KIM *et al.* (2003) estudaram os efeitos genotóxicos de compostos orgânicos em uma fábrica de produtos químicos, através do teste do micronúcleo na planta *Tradescantia*. Vasos com as plantas foram colocados em dois locais interiores da fábrica e um local externo, a 1,40m de altura. Obtiveram como resultados os valores de  $6,13 \pm 0,47$  e  $5,40 \pm 1,60$  micronúcleos por 100 células para os pontos internos, e  $2,93 \pm 0,43$  micronúcleos por 100 células, evidenciando a contaminação no interior da fábrica. Amostras do ar dos mesmos pontos onde estavam os vasos foram analisadas por Cromatografia Gasosa (GC/MS) e mostraram que o tolueno chegou à níveis de  $1946,6 \mu\text{g}/\text{m}^3$  no interior, sendo responsável por 98,7% do total de compostos orgânicos voláteis. Houve uma correlação positiva entre a frequência de micronúcleos e a concentração de tolueno no ar.

HERMAN *et al.* (1990) observaram o impacto de hidrocarbonetos aromáticos voláteis sobre o crescimento da alga *Selenastrum capricornutum*, e chegaram aos resultados de CE50 para benzeno e tolueno, 41 mg/l e 9,4 mg/l, respectivamente.

Segundo a legislação em vigor, a Resolução 020/1986 do CONAMA, faz referência aos índices de aceitabilidade para o benzeno para as Classes de Água 1, 2 e 3, que são classificadas como águas doces, de usos diversos que vão desde o abastecimento doméstico após tratamento simplificado (classe 1) ou convencional (classes 2 e 3), a proteção das comunidades aquáticas, a recreação de contato primário, até a criação natural e/ou intensiva (aquicultura) de espécies destinadas à alimentação humana. O valor limite citado na resolução é de 0,01 mg/l. O tolueno não é contemplado na resolução, e não há menção de índices máximos destes compostos para as classes de 5 a 8, referentes às águas salinas e salobras.

Também não são mencionados os valores máximos permitidos de benzeno e tolueno na Resolução 274/2000 do CONAMA que dispõe sobre os padrões de balneabilidade, ficando claro os índices toleráveis apenas na Portaria 518 de 25 de março de 2004, do Ministério da Saúde, que dispõe sobre a potabilidade das águas, as concentrações máximas permitidas para o benzeno e tolueno sendo 5 µg/L e 170 µg/L, respectivamente.

### **3.3. O comportamento do óleo no mar**

Os derrames de petróleo em áreas marítimas e fluviais têm recebido grande atenção por parte de várias áreas de pesquisa. Além de causar danos ao ecossistema como um todo, os impactos que este tipo de acidente pode causar são dos mais diversos, atingindo a economia local, por problemas causados em partes da cadeia alimentar, incluindo os recursos alimentares base da indústria pesqueira (EPA, 1999), ou qualquer indústria que utilize recursos marinhos como matéria prima, até a inutilização de regiões turísticas (PALADINO, 2000).

A trajetória simulada da mancha contaminante é governada fundamentalmente pelas equações do movimento, enquanto que sua concentração depende também, e de forma importante, de processos físico-químicos como evaporação, diluição, dispersão, degradação biológica, etc. (Figura 2).

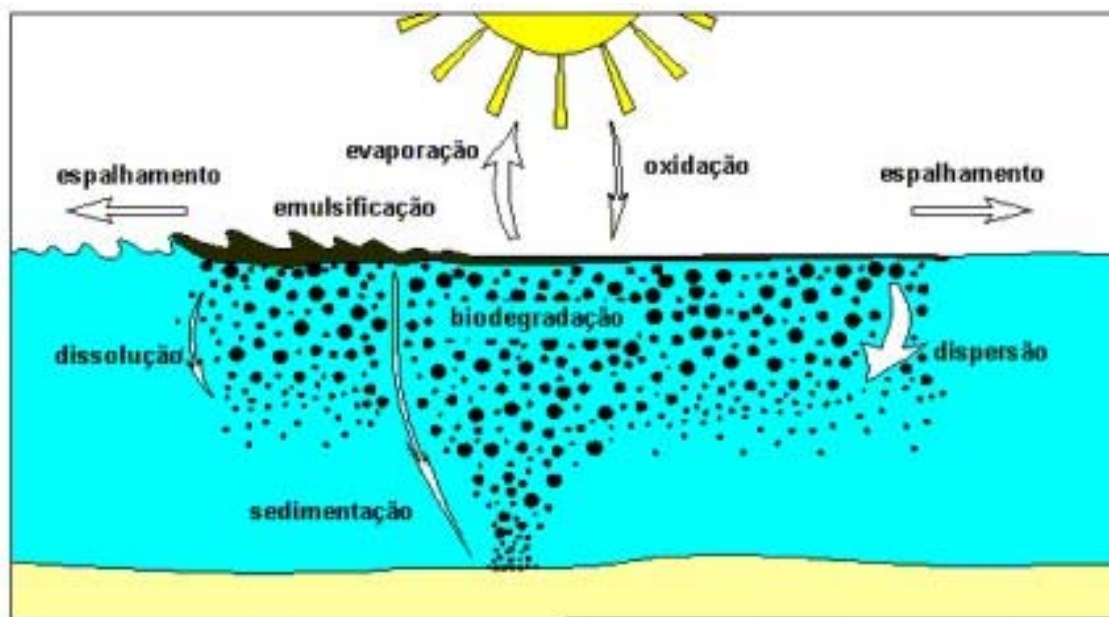


Figura 2: Comportamento de uma mancha de óleo no mar. Fonte: ITOPF (2001).

Os principais processos sofridos pelo óleo bruto e derivados são (Bícego, 1988; Zanardi, 1996; NRC, 1985):

- Espalhamento: devido à ação de ventos, marés, ondas e correntes. O processo que mais afeta o comportamento do óleo durante as primeiras horas após o derramamento, desde que o ponto fluído do óleo seja menor que a temperatura ambiente, é o espalhamento. Esse processo faz com que a mancha do óleo derramado se expanda aumentando sua área e diminuindo sua espessura, garantindo assim, maior transferência de massa por evaporação e dissolução;
- Evaporação: onde são eliminados os compostos mais leves, ocorrendo o aumento da viscosidade do óleo derramado. A taxa de evaporação em

uma mancha depende da velocidade do vento local e o estado do mar, propriedades físicas do óleo, superfície da mancha, pressão de vapor, espessura da mancha, e temperatura e condições de radiação no local;

- Dissolução: onde há a remoção de hidrocarbonetos aromáticos e saturados de baixo peso molecular através da transferência dos hidrocarbonetos para a coluna d'água. Embora não tenha muita importância em termos de balanço de massa, a dissolução tem grande influência sobre as consequências biológicas no ambiente marinho. Derramamentos sub-superfície aumentam a dissolução de componentes aromáticos de baixo peso molecular, que conforme se locomovem pela coluna d'água se particionam e são quase que completamente removidos do óleo. Em função disso o processo de evaporação é retardado;
- Dispersão: onde ocorre a incorporação de pequenas partículas na coluna d'água. A dispersão do óleo em pequenas gotículas é o processo natural de degradação mais importante em relação à quebra da mancha e ao seu desaparecimento. A densidade e a viscosidade do óleo derramado também afetam a dispersão natural. Quanto maior for a densidade do óleo, menor será a diferença entre o óleo e a água, e as gotículas de óleo se formarão com maior facilidade;
- Emulsificação: processo irreversível que impede operações de limpeza, provocando surgimento de uma mistura viscosa e flutuante. O óleo derramado possui uma aparência visual preta e densa, mas conforme a emulsificação começa a atuar, a coloração do óleo muda para marrom, amarelo ou laranja. Em contraste, as regiões mais finas da mancha terão a aparência de filmes iridescentes ou prateados. A emulsificação do óleo é o resultado da dispersão de gotas de água no meio oleoso, formando uma matéria altamente viscosa, também chamada de mousse de chocolate;

- **Adsorção:** (de compostos solúveis) junto aos tecidos de organismos vivos e partículas suspensas. A interação entre derrames de óleo próximos à costa e com alta concentração de materiais particulados suspensos representam um importante mecanismo para a rápida dispersão e remoção do óleo da superfície da água, reduzindo-o em até 15% de sua massa;
- **Sedimentação:** havendo a remoção do óleo da coluna d'água. A gravidade específica dos óleos intemperizados é próxima à da densidade da água a temperatura de 15°C. Quanto mais grosso ele for, maiores serão suas chances de chegar à gravidade específica igual a 100. Conseqüentemente, as probabilidades dele afundar aumentam. Além disso, há também a possibilidade de formação de bolas ou pedaços de piche, que são massas semi-sólidas compactadas de óleo intemperizado agregado a partículas presentes na coluna d'água ou no assoalho oceânico e cuja presença representa sérios danos à costa, principalmente às praias de areia;
- **Biodegradação:** quebra dos compostos de menor peso molecular como fonte de carbono para os organismos. Para a biodegradação de gotículas suspensas na coluna d'água é essencial a presença de grandes concentrações de microorganismos na interface água/óleo, que são capazes de metabolizar a maioria dos componentes do óleo e, cuja presença, é bastante limitada no mar. Portanto, a biodegradação é um processo lento, que requer meses e até anos para se completar. A biodegradação de hidrocarbonetos é, na realidade, uma oxidação biológica e, portanto, os microorganismos envolvidos são espécies aeróbias, como bactérias e fungos. Ela é limitada por vários fatores, como a concentração de oxigênio do mar, a temperatura e a disponibilidade de nutrientes;

- Oxidação fotoquímica: que acarreta uma maior dispersão devido à oxidação de compostos mais solúveis. Os componentes mais voláteis do óleo são essencialmente não solúveis na água do mar. Entretanto, sob a influência da luz solar, radicais livres desses compostos podem reagir com o oxigênio, permitindo a quebra de moléculas maiores, em compostos mais solúveis na água do mar. A razão de degradação é, em grande parte, influenciada pelo comprimento de onda incidente, pela concentração de materiais particulados suspensos, pela concentração de aromáticos de alto peso molecular e pela espessura da mancha.

A evaporação é o processo de degradação mais importante entre as primeiras 24 e 48 horas após um derramamento (Figura 3) em relação à transferência de massa (partição molecular), remoção das substâncias mais tóxicas e eliminação de componentes de baixo peso molecular (MICHEL, 1992; ITOPI, 2002). Ela pode atingir até 75% da massa total derramada em óleos de baixa densidade (MICHEL, 1992), e este processo tem uma forte influência no balanço de massa global de modelos de transporte (PALADINO, 2000).

O fenômeno é extremamente complexo devido ao fato do petróleo ser um fluido formado por uma grande quantidade de componentes. Estes componentes tem diferentes temperaturas de evaporação assim como diferentes graus de solubilidade e saturação no ar, o que torna difícil um tratamento detalhado deste fenômeno (EPA, 1999).

Em consequência da remoção dos hidrocarbonetos leves através da evaporação, o volume do óleo diminui e a sua toxicidade é reduzida. Porém, os BTEXs apresentam toxicidade aguda, nas primeiras 48 horas, durante o processo de evaporação. A alta volatilidade dos compostos não impede que haja solubilização de parte do tóxico na água, e contaminação em curto prazo dos organismos vivos do local afetado.



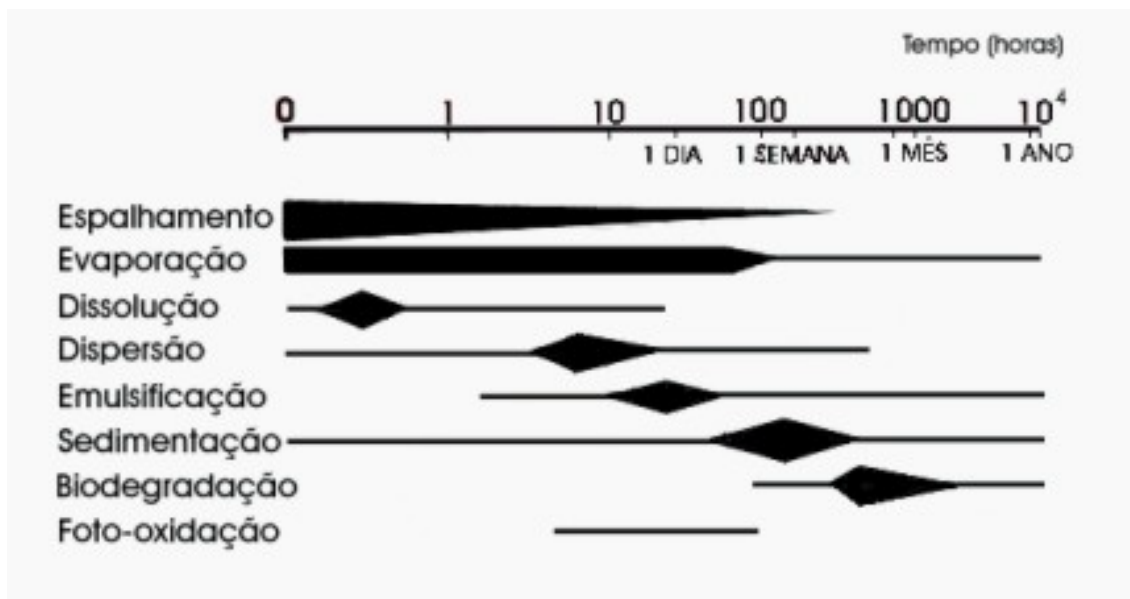


Figura 3: Processos físico-químicos sofridos por uma mancha de óleo no mar no decorrer do tempo. Fonte: PALADINO (2000).

### 3.4. Testes de toxicidade

A toxicologia aquática estuda os efeitos de substâncias químicas manufaturadas e de outros materiais, antropogênicos ou naturais, em organismos aquáticos. Os efeitos adversos dessas substâncias incluem letalidade a curto e longo prazo, e efeitos subletais, como alterações comportamentais, reprodutivas, de crescimento e alimentação (SOUZA, 2002). Mais complexa, a ecotoxicologia estuda de forma quali-quantitativa os efeitos adversos das substâncias químicas, considerando suas inter-relações no ecossistema além da atuação nos organismos (CHASIN & AZEVEDO, 2003).

O estudo sobre os efeitos de poluentes no ecossistema como um todo é extremamente complexo e por vezes, inviável devido a diversos fatores tais como custos, disponibilidade de tempo, extensão das áreas sob impacto e diversidade das espécies envolvidas. Entretanto, para poder estimar os efeitos deletérios de materiais tóxicos sobre o meio ambiente é frequentemente necessário obterem-se respostas rápidas. Nesse sentido, os testes de toxicidade aguda são ferramentas importantes e confiáveis para estimar as concentrações nas quais um determinado produto tóxico provoca efeitos

deletérios em uma dada população de organismos selecionada (CAPUZZO *et al.*, 1988; EPA, 2002). Os testes agudos simulam a situação ambiental na qual o organismo é exposto, a manifestação de um efeito é observada em um curto espaço de tempo após administração de uma concentração única e elevada de uma substância.

O índice que expressa a toxicidade aguda (CL50) é um valor virtual estatisticamente obtido. É um valor calculado que representa a melhor estimativa da concentração necessária para produzir a morte em 50% dos organismos e é, portanto, sempre acompanhada de meios de estimar seu erro (CHASIN & AZEVEDO, 2003).

Os critérios para escolher o organismo-teste devem levar em consideração (RAND *et al.*, 1995): sua representatividade em relação a um determinado grupo de importância ecológica; a facilidade de manutenção em laboratório; sua estabilidade genética (populações uniformes); e sua pertinência como membro de uma família que pertença à cadeia alimentar do homem.

Deve se considerar, ainda, o conhecimento sobre o toxicante em termos de suas propriedades físico-químicas: hidrólise, oxidação, estrutura molecular, solubilidade, volatilidade, bem como os fatores biológicos, os quais determinam como agentes potencialmente tóxicos agem no ambiente e como o ambiente atua no agente para que se possa estimar o potencial de exposição dos toxicantes (RAND *et al.*, 1995).

O ensaio de toxicidade aguda permite: estabelecer uma relação entre a concentração de exposição e a intensidade de efeitos adversos observados; calcular uma concentração letal (CL50); estabelecer uma comparação da toxicidade de uma substância com outras substâncias na qual a toxicidade é conhecida.

### 3.5. Organismo-teste

Os crustáceos da ordem Mysidacea são organismos semelhantes a pequenos camarões, que habitam desde as regiões costeiras até grandes profundidades oceânicas (7.210m) (MAUCHLINE, 1980). Nos últimos anos, os misidáceos vem sendo objeto de estudo em laboratório por serem organismos excelentes para estudos experimentais por sua fácil adaptação a diversas condições ambientais (GUSMÃO *et al.*, 1998). São animais geralmente onívoros e podem se alimentar de algas e detritos mas também muitas espécies são estritamente carnívoras. Devido ao seu tamanho variável de 600µm até aproximadamente 10cm, e apresentar distribuição agregada no mar formando grandes manchas, as espécies representam significativa biomassa de alimento para animais marinhos (GUSMÃO *et al.*, 1999; GAMA & ZAMBONI, 1999; GAMA *et al.*, 2002).

A espécie *Mysidopsis bahia*, comum na costa leste dos Estados Unidos, tem sido bastante utilizada em testes de toxicidade aguda e crônica com várias substâncias puras como: o cádmio (ROBERTS *et al.*, 1982; DeLISLE & ROBERTS Jr., 1988), o zinco (LUSSIER *et al.*, 1985), o dodecil sulfato de sódio (DSS), o sulfato de cobre (MORRISON *et al.*, 1989; SCHIMMEL *et al.*, 1989), a amônia (MILLER, 1990), o nitrato de prata (BRETELER *et al.*, 1982), o mercúrio e o níquel (GENTILE *et al.*, 1982). Estes estudos mostraram que *M. bahia*, quando comparada com outros organismos, apresentou grande sensibilidade, tanto nos testes agudos como nos testes crônicos, com boa reprodutibilidade dos resultados. Considerando os resultados obtidos para Zinco, os valores estiveram próximos de 0,499 mg/l. *M. bahia* é uma das espécies recomendadas pela EPA (2002) para testes agudos de efluentes e águas receptoras.

Vários aspectos sobre técnicas de cultivo envolvendo a história da vida, ecologia, distribuição e alimentação de três espécies diferentes de *Mysidopsis* (*M. bahia*, *M. bigelowi* e *M. almyra*), estão reunidas no trabalho de LUSSIER *et al.* (1988). Os autores apresentam as condições ideais para o cultivo destas espécies.

Outras espécies de Mysidacea vêm sendo mantidas ou cultivadas em laboratório e utilizadas em testes de toxicidade. *Holmesimysis costata*, uma espécie que ocorre na costa oeste dos Estados Unidos, foi utilizada em teste agudo na avaliação da toxicidade de efluentes municipais submetidos a diferentes tratamentos, mostrando-se sensível na detecção das variações da toxicidade dos mesmos (MARTIN *et al.*, 1989). Os autores utilizaram o zinco como substância de referência, avaliando a sensibilidade de organismos de diferentes idades. A CL50(96h) esteve entre 74 e 85 µg/l. Esta espécie também é aceita pela EPA (2002), como organismo-teste em bioensaios em água doce ou salobra de efluentes e águas receptoras.

Na Europa, GARNACHO *et al.* (2000) estudaram a espécie *Praunus flexuosus*, de ocorrência no Sul da Inglaterra. Os autores avaliaram a toxicidade do cobre sobre uma população e a variação dos resultados entre verão e inverno. A CL50(96h) encontrada no verão foi de 30,8 µg/l. Outra espécie européia estudada por ROAST *et al.* (2001) foi *Neomysis integer*, sendo avaliado o impacto do cádmio sobre a natação dos organismos.

No Brasil, BADARÓ-PEDROSO (1993) faz uma ampla revisão dos estudos com misidáceos até aquele ano, e apresenta elementos importantes como a obtenção de respostas sub-letais em testes de toxicidade crônicos de curta duração com substâncias químicas, amostras de água e efluentes colhidos no Canal de São Sebastião, SP. PHAN *et al.* (1994) estudaram a toxicidade de um efluente simulado derivado de petróleo sobre *Promysis atlantica*. REYNIER (1995), trabalhando com *Mysidium gracile*, testou hidrocarbonetos isolados.

A espécie *Mysidopsis juniae* vem sendo estudada desde 1989 (BADARÓ & NIPPER, 1989; BADARÓ-PEDROSO & NIPPER, 1991; PRÓSPERI *et al.*, 1994; PRÓSPERI & BURATINI, 1994). Foi empregada por BADARÓ-PEDROSO (1999) para avaliar a toxicidade de efluentes derivados exclusivamente da produção de petróleo. A metodologia para sua utilização como organismo-teste em testes de toxicidade aguda foi padronizada pela CETESB (1992) e BADARÓ-PEDROSO *et al.* (2002).

A facilidade de manuseio em laboratório, o ciclo de vida curto, o pequeno tamanho, o desenvolvimento direto e sensibilidade a diversas substâncias tóxicas, tornam os misidáceos ideais às propostas dos testes de toxicidade (NIMMO & HAMAKER, 1982).

O misidáceo *Metamysidopsis elongata atlantica* Bacescu, 1968 é um crustáceo pertencente a superordem Peracarida, que possui como característica distintiva a presença de uma bolsa incubadora ventral (ou marsúpio) nas fêmeas (BARNES, 1984). A família Mysidae da sub-ordem Mysida possui estatocisto (MAUCHLINE, 1980), e esta espécie se diferencia das outras espécies do grupo por apresentarem o telson inteiro em forma de cunha pequeno e curto, com espinhos apicais, sendo o mediano menor e os laterais maiores que os demais (MONTÚ com. pes.).

A descrição taxonômica da espécie foi feita por ALMEIDA PRADO (1974): Olhos cônicos, córnea semi-esférica; antena lanceolada, com cerdas ao longo de toda a borda, pequeno artículo distal com ápice truncado; maxila sem exópodo; carpoprópodo do 2º-8º endópodos torácicos bi-segmentados; 2 cromatóforos ventrais, um no 3º e outro no 4º segmento abdominal; exópodo do 4º pleópodo do macho com 6 segmentos e longa cerda terminal modificada; endópodo do urópodo provido de espinhos irregulares (cerca de 30); telso inteiro em forma de cunha, com espinhos apicais, dos quais o mediano é menor e os laterais maiores que os demais (Figuras 4 e 5).

*M. e. atlantica* é um crustáceo do zooplâncton marinho que pode fazer parte do suprabentos de praias arenosas bastante dinâmicas, vivendo na zona de arrebentação, ou mesmo em estuários (ZAMBONI, 2000). Encontra-se amplamente distribuída nas regiões costeiras do sudeste e sul do Brasil, ocupando uma posição muito importante na cadeia trófica pelo seu regime alimentar omnívoro e com marcada tendência à carnivoria. Também é um componente importante na dieta de peixes zooplancatófagos e microcrustáceos bênticos entre outros. Como sua distribuição é agregada, constituem-se em uma grande fonte de biomassa disponível para outros níveis tróficos (GUSMÃO *et al.*, 1999).

Já foi observado abundantemente na primavera e no verão na Praia do Cassino em Rio Grande, RS (BERSANO, 1994) e também tem ocorrência registrada no litoral de Cananéia, SP (ALMEIDA PRADO, 1974), apresentando aparentemente uma ampla distribuição geográfica. LAITANO & RESGALLA Jr. (2000) utilizaram *M. e. atlantica* na avaliação de sedimentos de rios de Santa Catarina, e coletaram os organismos na Praia de Navegantes (Litoral Norte do Estado).

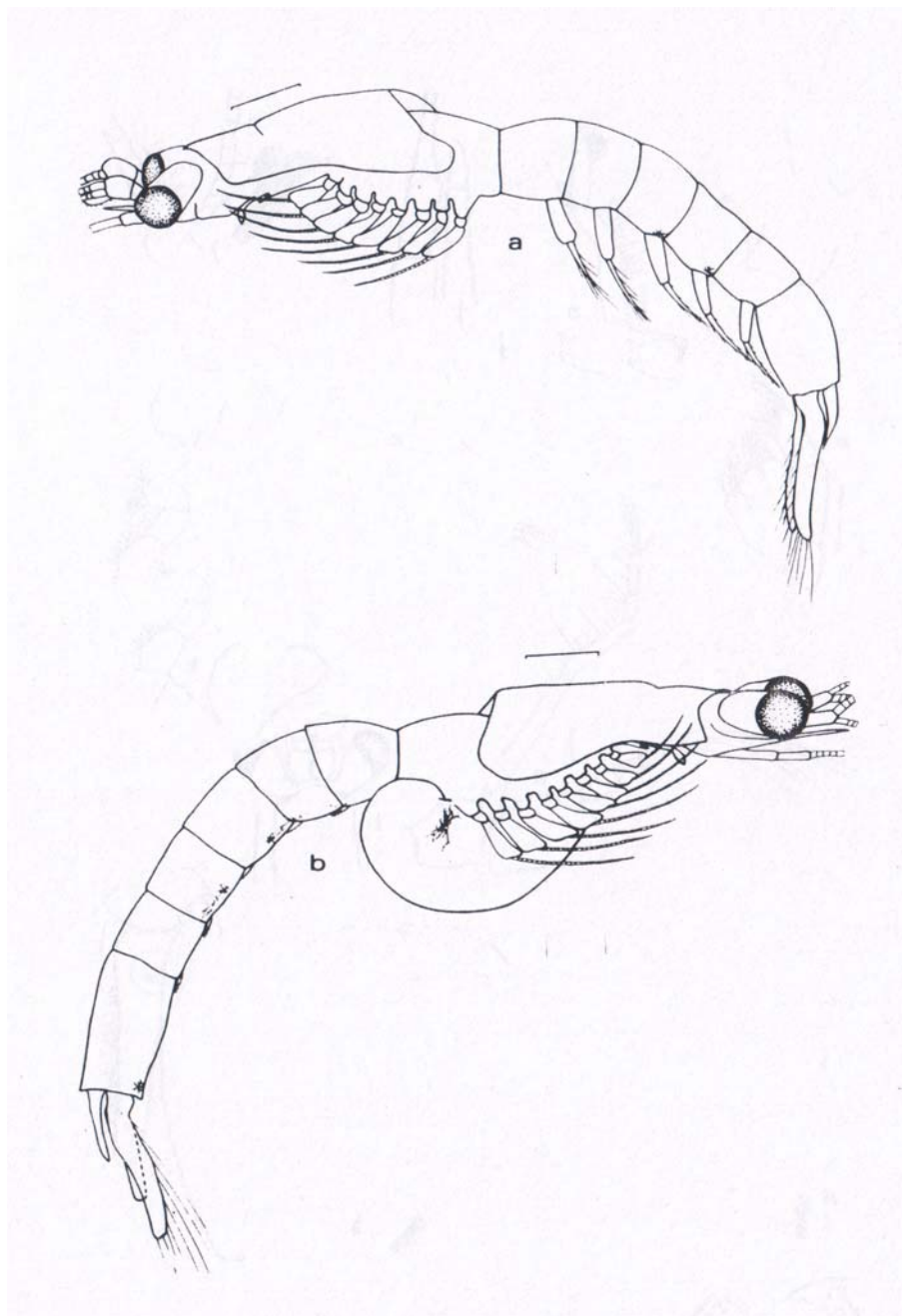


Figura 4: *Metamysidopsis elongata atlantica*. a - macho adulto; b - fêmea adulta. Escala de 0,5 mm. Fonte: ALMEIDA PRADO (1974).

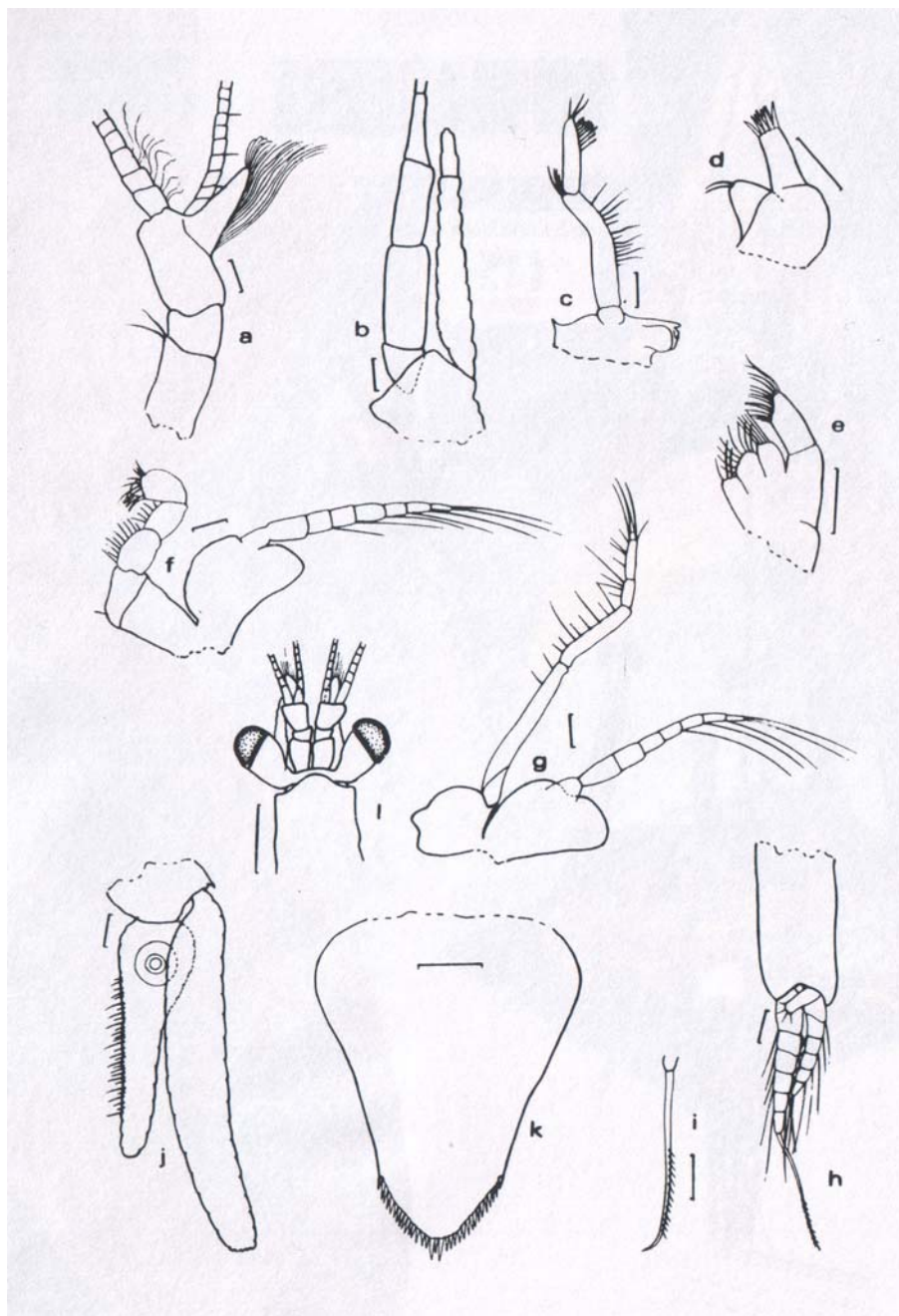


Figura 5: *Metamysidopsis elongata atlantica* - macho adulto. Escala de 0,1 mm (salvo a – 0,5 mm). Fonte: ALMEIDA PRADO (1974).

- a – antênula
- b – antena
- c – mandíbula
- d – maxílula
- e – maxila
- f – primeira perna torácica
- g – oitava perna torácica
- h – quarto pleópodo
- i – cerda terminal do quarto pleópodo
- j – urópodo

- k – telso
- l – vista dorsal da parte anterior do cefalotórax.

Classificação Taxonômica de *M. e. atlantica*:

Filo Arthropoda

Subfilo Crustacea

Classe Malacostraca

Superordem Peracarida

Ordem Mysidacea

Subordem Mysida

Família Mysidae

Subfamília Mysinae

Tribo Leptomysini

Gênero *Metamysidopsis*

Espécie *elongata atlantica*



## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Coleta dos organismos

Os organismos foram coletados na praia de Navegantes em Santa Catarina nos meses de verão de 2003 e 2004. O Município de Navegantes (Figura 6) possui 97 km<sup>2</sup>, estando limitado à leste pelo Oceano Atlântico, a norte pelo Município de Penha, ao sul pelo Município de Itajaí (Rio Itajaí-Açú) e a oeste pelos municípios de Luiz Alves e Ilhota. A praia possui aproximadamente 10000 m de comprimento e largura média de 28 m. Está limitada ao sul pelos molhes de estabilização do rio Itajaí-Açú e ao norte pela Ponta da Enseada (MENEZES, 2002). Sua localização geográfica é 26°53'56" S de latitude e 48°39'15" W de longitude.

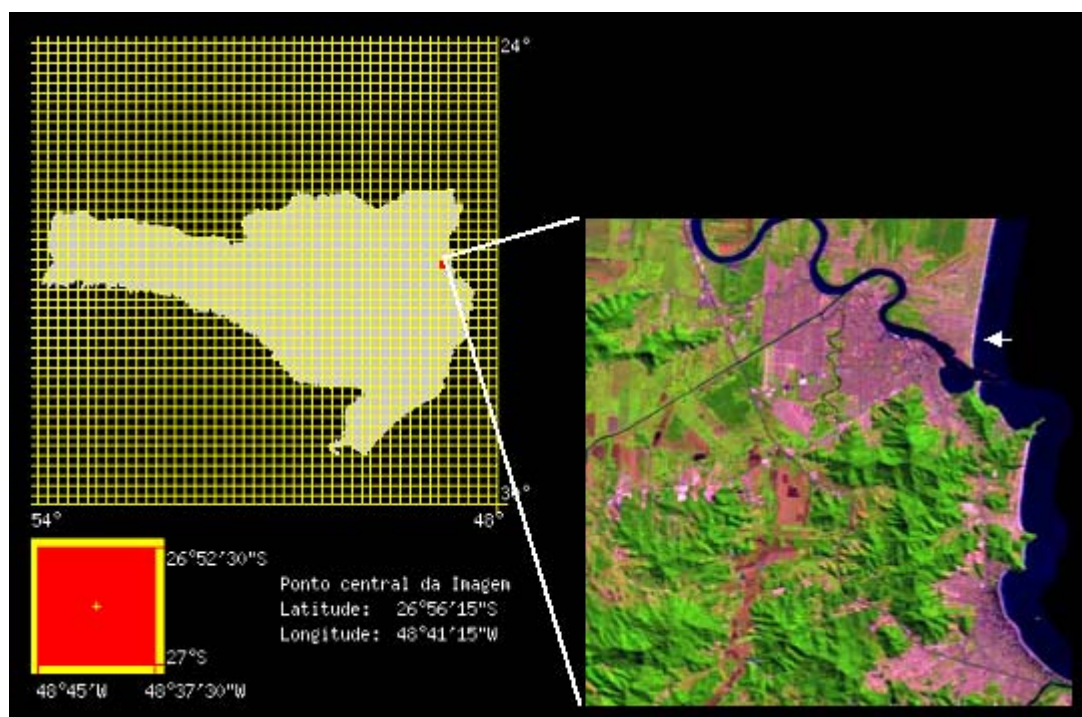


Figura 6: Localização geográfica do Município de Navegantes (seta) e imagem de satélite da região, em evidência o Estuário do Rio Itajaí-Açú. Fonte: EMBRAPA, 2004.

KLEIN & MENEZES (2001) caracterizaram o estágio morfodinâmico para a praia de Navegantes. As principais características são:

- apresenta-se composta por areia fina com granulometria média aumentando de 0,15mm do extremo norte para 0,19mm na parte central da praia. A declividade média varia entre 2,5 e 3,5 graus, atuando ondas do tipo deslizante e mergulhante com altura média entre 0,8 e 0,9 m e período de 8 a 10,5 segundos. A plataforma interna adjacente à praia de Navegantes apresenta uma declividade aproximada de 1:200.
- apresenta um estágio morfodinâmico modal dissipativo, com presença de dois bancos arenosos submersos, constituindo a única praia com múltiplos bancos do litoral centro-norte catarinense.

As características acima mencionadas sobre o local das coletas são responsáveis pela ocorrência de *Metamysidopsis elongata atlantica*, sendo este tipo de praia e o aporte de matéria orgânica proveniente da desembocadura de um estuário ideais para a sua presença, segundo observações feitas por BERSANO (1994), GUSMÃO *et al.* (1998) e GAMA & ZAMBONI (1999) no litoral do Rio Grande do Sul.

Exemplares foram obtidos na zona de arrebentação entre 0,50 e 1,50m de profundidade, por meio de arrastos paralelos à linha de praia com duração média de 3 minutos cada, utilizando-se rede de plâncton cônica com boca de 50cm de diâmetro e malha de 300µm. Os arrastos foram efetuados sempre no sentido contra-corrente de deriva.

O material foi acondicionado em balde plástico contendo água do local e imediatamente transportado para o Laboratório de Toxicologia Ambiental (LabTox) da UFSC, efetuando-se a triagem manual do número de fêmeas em estado fértil (Figura 7), mantendo-as separadas dos demais organismos até o nascimento dos juvenis para iniciar os cultivos.



Figura 7: Exemplar de *Metamysidopsis elongata atlantica*. Foto tirada com Microscópio de Fluorescência PX40 acoplada ao Sistema de Analisador de Imagens Image Pro Plus. Aumento de 50 vezes.

#### 4.2. Manutenção dos organismos em laboratório

A metodologia de cultivo aplicada foi adaptada de GAMA & ZAMBONI (1999), a qual foi uma adequação dos respectivos métodos de manutenção e cultivo utilizados por BADARÓ-PEDROSO (1993) e PRÓSPERI & BURATINI (1994) para a espécie da costa brasileira *Mysidopsis juniae*, e por outros autores como LUSSIER *et al.* (1988) que estudaram espécies do Atlântico Norte e Pacífico como *Mysidopsis bahia*, *Mysidopsis almyra* e *Mysidopsis bigelowi*, além da espécie *Holmesimysis costata* (MARTIN *et al.*, 1989) (Tabela 2).

Os juvenis foram mantidos em recipientes de vidro separados dos adultos, com volume de 5L cada, temperatura de  $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ , salinidade de 30, iluminação de 300 LUX com fotoperíodo de 12h claro/12h escuro e aeração constante. A densidade nos aquários de juvenis foi de 30 indivíduos por litro, e a taxa alimentar foi de 40 a 60 náuplios de *Artemia sp* recém eclodidos por misidáceo por dia, enriquecidos com óleo de fígado de bacalhau Emulsão Scott. Nos aquários de adultos a densidade foi de 20 indivíduos por litro, e a taxa alimentar foi de 70 a 100 náuplios de *Artemia sp* recém eclodidos por misidáceo por dia, enriquecidos com óleo de fígado de bacalhau, a uma proporção macho:fêmea de 1:2. O sistema de cultivo foi o semi-estático, com renovação de água semanal (1 troca total no primeiro dia e 1 troca de 2/3 da

água no quarto dia). Após a maturação sexual (aproximadamente 14 dias após a eclosão) os juvenis se tornaram adultos e foram transportados para novos aquários (Figura 8).

A eclosão de *Artemia sp* (Figura 9) ocorre em 1L de água do mar filtrada com aeração e iluminação constante. O óleo de fígado de bacalhau foi diluído na água e os cistos eclodiram em 24 horas (Figura 10).

Tabela 2: Sumário das condições de cultivo de *Metamysidopsis elongata atlantica* em laboratório (GAMA & ZAMBONI, 1999).

| <b>Condições de cultivo</b>  | <b>Juvenis<br/>(até diferenciação sexual)</b>                                                                     | <b>Adultos<br/>(até reprodução)</b>                                            |
|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Sistema</b>               | Semi-estático                                                                                                     | Semi-estático                                                                  |
| <b>Renovação de água</b>     | Semanal (1 troca total no primeiro dia e 1 troca de 2/3 da água no quarto dia)                                    | Semanal (1 troca total no primeiro dia e 1 troca de 2/3 da água no Quarto dia) |
| <b>Recipiente de cultivo</b> | Polietileno transparente                                                                                          | Polietileno transparente                                                       |
| <b>Volume do recipiente</b>  | 15l                                                                                                               | 15l                                                                            |
| <b>Densidade</b>             | 30 organismos/l                                                                                                   | 20 organismos/l                                                                |
| <b>Salinidade</b>            | 28 a 34                                                                                                           | 28 a 34                                                                        |
| <b>Temperatura</b>           | 20 ± 1°C                                                                                                          | 20 ± 1°C                                                                       |
| <b>PH</b>                    | 7,9 a 8,4                                                                                                         | 7,9 a 8,4                                                                      |
| <b>Fotoperíodo</b>           | 12/12h                                                                                                            | 12/12h                                                                         |
| <b>Iluminação</b>            | 300 LUX                                                                                                           | 300 LUX                                                                        |
| <b>Aeração</b>               | Constante                                                                                                         | Constante                                                                      |
| <b>Alimentação</b>           | Até 3 dias náuplios de <i>Artemia sp</i> recém eclodidos, após, <i>Artemia sp</i> enriquecida com óleos de peixes | Náuplios de <i>Artemia sp</i> enriquecida com óleos de peixes                  |
| <b>Taxa alimentar</b>        | 40 a 60 náuplios/misid./dia                                                                                       | 70 a 100 náuplios/misid./dia                                                   |
| <b>Proporção macho/fêmea</b> | Desconhecida                                                                                                      | 1:2                                                                            |



Figura 8: Aquários de cultivo de *Metamysidopsis elongata atlantica*.



Figura 9: Exemplar de *Artemia* sp. Foto tirada com Microscópio de Fluorescência PX40 acoplada ao Sistema de Analisador de Imagens Image Pro Plus. Aumento de 250 vezes.



Figura 10: Kit para Eclosão de *Artemia sp.*

#### 4.3. Testes de toxicidade com substâncias de referência

Ensaio de toxicidade com *M. e. atlantica* seguiram a metodologia de testes de toxicidade aguda de 96h descrita em NIPPER *et al.*, (1993) (Tabela 3). Os organismos foram expostos a determinadas concentrações de Zinco e Cobre (na forma de  $\text{ZnSO}_4\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{Cu}_2\text{SO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , respectivamente) em volume de solução de 180 ml, com 3 réplicas e 10 indivíduos de 2 a 5 dias de vida por réplica (Figura 11). O teste é estático, mantido em temperatura constante de  $20\pm 1^\circ\text{C}$ , fotoperíodo de 12/12h claro/escuro, pH entre 6,8 e 8,2, salinidade de  $30\pm 1$ , alimentação similar à do cultivo, e água de diluição sendo água do mar filtrada e desinfetada com Ultra Violeta. A leitura dos testes procedia a cada 24h, com a retirada dos organismos mortos.

A opção pela utilização destas substâncias foi baseada no estudo de ZAMBONI (2000), o qual investigou as melhores substâncias de referência para a espécie em questão, e concluiu ser os metais Zinco e Cobre satisfatórios nesta avaliação.

As concentrações de  $\text{ZnSO}_4\text{H}_2\text{O}$  testadas foram: 0 mg/l, 0,125 mg/l, 0,25 mg/l, 0,5 mg/l, 1,0 mg/l e 2,0 mg/l. As concentrações de  $\text{Cu}_2\text{SO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  testadas foram: 0  $\mu\text{g/l}$ , 25  $\mu\text{g/l}$ , 50  $\mu\text{g/l}$ , 100  $\mu\text{g/l}$ , 200  $\mu\text{g/l}$  e 400  $\mu\text{g/l}$ . Os dados somente

são válidos quando o máximo de 20% dos controles atinge a mortalidade (CETESB, 1992).



Figura 11: Estufa Incubadora com fotoperíodo onde foram conduzidos os bioensaios de toxicidade.

Tabela 3: Resumo da metodologia empregada nos testes de toxicidade com metais.

| <b>Condições-teste</b>                | <b><i>M. e. atlantica</i></b>                                |
|---------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| <b>Tipo de teste</b>                  | Agudo/estático                                               |
| <b>Duração</b>                        | 96h                                                          |
| <b>Substância</b>                     | Zn e Cu                                                      |
| <b>Salinidade</b>                     | 30 ± 1                                                       |
| <b>Água de diluição</b>               | Água do mar                                                  |
| <b>Temperatura</b>                    | 20 ± 1°C                                                     |
| <b>PH</b>                             | 6,8 a 8,2                                                    |
| <b>Fotoperíodo</b>                    | 12/12h                                                       |
| <b>Réplicas</b>                       | 3                                                            |
| <b>Volume de solução</b>              | 180ml                                                        |
| <b>Organismos/réplica</b>             | 10                                                           |
| <b>Idade</b>                          | 2 a 5 dias                                                   |
| <b>Frasco-teste</b>                   | Bequer de vidro                                              |
| <b>Alimentação</b>                    | do cultivo                                                   |
| <b>Efeito observado</b>               | Mortalidade                                                  |
| <b>Retirada dos organismos mortos</b> | a cada 24h                                                   |
| <b>Expressão</b>                      | CL50 (96h)                                                   |
| <b>Cálculo da CL50</b>                | “Trimmed Spearman-Kärber”<br>(HAMILTON <i>et al.</i> , 1977) |



#### 4.4. Testes de toxicidade com benzeno e tolueno

Os testes agudos com os compostos monoaromáticos também seguiram a metodologia descrita acima. A escolha de bioensaios do tipo estático, sem renovação da contaminação, contraria a maior parte dos estudos realizados na área para este tipo de composto, altamente volátil. Porém, a razão pela escolha do tipo de teste, sem haver também uma preocupação em manter os frascos fechados, minimizando ao máximo a evaporação das substâncias testadas, foi de tentar reproduzir de maneira simples um derrame no mar de óleo cru ou de algum derivado do petróleo que tenha em sua constituição benzeno e tolueno. No meio natural, não há nada que impeça que o intemperismo atue sobre a mancha em dispersão, e os compostos que possuem baixo peso molecular, são altamente solúveis em água e muito voláteis.

Segundo KENNISH (1997a), as perdas por evaporação de hidrocarbonetos voláteis removem os compostos tóxicos de baixo peso molecular durante as primeiras 24 a 48 horas depois de um derramamento de óleo. A perda desses compostos voláteis diminui substancialmente a maior toxicidade do óleo sobre as comunidades de organismos. Devido a esse comportamento do benzeno e tolueno, os testes duraram apenas 48h, visto que não houve diferença nos resultados entre estes e os testes de 96h de duração.

As especificações dos compostos usados nos testes são: Benzeno da marca Sigma Chemical Co., com 99,9% de pureza, para uso em HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência); Tolueno da marca Mallinckrodt Chemical Inc., com 99,8% de pureza. Ambos os compostos foram gentilmente cedidos pelo Laboratório de Remediação de Águas Subterrâneas (REMAS) da UFSC.

As soluções usadas nos testes foram preparadas adicionando-se quantidades de massa de cada composto em meio líquido, conforme cada concentração nominal que se queria. Porém, sabe-se que para este tipo de composto orgânico, não há dissolução completa da massa na água,

principalmente sem agitação, como foi feito neste experimento. Portanto a concentração nominal não foi atingida.

Testes preliminares para verificar a faixa de sensibilidade e resposta de *M. e. atlantica* foram feitos. As concentrações do primeiro teste para ambos os compostos foram: 2,5 mg/l, 5,0 mg/l, 10 mg/l, 20 mg/l e 40 mg/l foram testadas, e a mortalidade foi total. Num segundo teste, as concentrações para tolueno foram: 170 µg/l, 340 µg/l, 680 µg/l, 1360 µg/l e 2040 µg/l. Observados os resultados, encontraram-se as concentrações definitivas de 0 µg/l, 170 µg/l, 200 µg/l, 240 µg/l, 280 µg/l e 320 µg/l.

Para o benzeno, um segundo teste foi realizado com as concentrações: 20 µg/l, 40 µg/l, 80 µg/l, 160 µg/l e 320 µg/l. As concentrações definitivas baseadas nos resultados dos testes preliminares foram: 0 µg/l, 25 µg/l, 50 µg/l, 100 µg/l, 150 µg/l e 200 µg/l.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Cultivo de *Metamysidopsis elongata atlantica*

Nos meses de verão de 2003 (fevereiro e março) começaram a ser realizadas as primeiras coletas para obtenção de *M. e. atlantica*. Os resultados destas coletas iniciais foram pequenas quantidades de organismos obtidos com os arrastos de praia. Tentou-se coletar sempre após uma ressaca, quando, segundo a literatura, a probabilidade de sucesso para a captura de misidáceos da espécie em estudo era maior. Mas a dificuldade de acesso ao ambiente onde o microcrustáceo habita (Município de Navegantes, distante cerca de 120 km de Florianópolis) não possibilitou uma frequência razoável de saídas de campo.

Para solucionar o problema da distância, foram feitas amostragens em diversas praias da Ilha de Santa Catarina, mas como na ilha não há condições favoráveis para a espécie, como um aporte grande de matéria orgânica suprida pela presença da desembocadura de um estuário, apenas outras espécies de misidáceos foram encontrados nas amostras de Pântano do Sul, Barra da Lagoa e Lagoinha.

As saídas de campo continuaram nos meses de outono, inverno e primavera, e quantidades significativas de organismos foram obtidas, porém, as condições laboratoriais de cultivo descritas para *M. e. atlantica* por outros autores não apresentaram bons resultados, como mortalidade alta dias após a coleta e baixa taxa de reprodução, não disponibilizando números suficientes de indivíduos para a manutenção do cultivo e utilização em bioensaios.

Algumas modificações foram feitas no protocolo de cultivo baseado no projeto original. Devido ao pouco espaço os recipientes de cultivo eram menores, de até 5L, mantendo-se a densidade populacional ideal. As fêmeas em estado fértil (marsúpio com filhotes) passaram a ficar com os machos, pois foi observada uma maior liberação de juvenis em presença dos machos comparando-se com o isolamento das fêmeas.

Quando a coleta era bem sucedida, e muitos juvenis eram liberados no laboratório (geração um – F1), parte destes era utilizada para dar continuidade ao cultivo, produzindo a geração dois (F2), e com a outra parte eram feitos os testes de toxicidade com as substâncias de referência e com os compostos monoaromáticos. A F2 não chegou a ser produzida em quantidade e frequência satisfatórias para seu uso nos bioensaios. Portanto apenas a F1 foi usada na avaliação da toxicidade das substâncias em estudo.

## 5.2. Testes de toxicidade com substâncias de referência

A sensibilidade de *M. e. atlantica* foi testada para duas substâncias de referência, o zinco e o cobre. A CL50(96h) obtida para o zinco foi de 622 µg/l (DP=102), com variação de 393 µg/l a 758 µg/l, apresentando coeficiente de variação (CV) de 16,30%. Para o cobre, a CL50(96h) obtida foi de 121 µg/l (DP=18) com os valores variando entre 93 µg/l e 151 µg/l, e um CV de 14,8% (Tabela 4).

Tabela 4: Resultados da CL50(96h) obtidos nos testes agudos com zinco e cobre conduzidos com *M. e. atlantica*. O intervalo de confiança de 95% é apresentado entre parênteses. DP=desvio padrão. CV=coeficiente de variação.

| Testes       | Zinco CL50(96h) µg/l | Cobre CL50(96h) µg/l |
|--------------|----------------------|----------------------|
| 1            | 393 (291-530)        | 141 (108-184)        |
| 2            | 758 (549-1046)       | 123 (94-160)         |
| 3            | 615 (450-841)        | 123 (90-168)         |
| 4            | 659 (473-919)        | 151 (120-190)        |
| 5            | 615 (450-841)        | 123 (90-168)         |
| 6            | 615 (433-873)        | 100 (72-138)         |
| 7            | 707 (502-994)        | 123 (94-160)         |
| 8            | 659 (473-919)        | 93 (67-129)          |
| 9            | 574 (401-822)        | 114 (86-153)         |
| Média (x)    | 622                  | 121                  |
| Valor Mínimo | 393                  | 93                   |
| Valor Máximo | 758                  | 151                  |
| DP           | 102                  | 18                   |
| CV (%)       | 16,40                | 14,8                 |

Para o controle da precisão analítica dos testes com zinco e cobre, foram montados gráficos para a avaliação da tendência da sensibilidade dos organismos ao longo do tempo (Figura 12 e 13). Os limites estão compreendidos entre a média das CL50, acrescida ou diminuída de duas vezes o seu desvio padrão ( $x \pm 2 DP$ ).

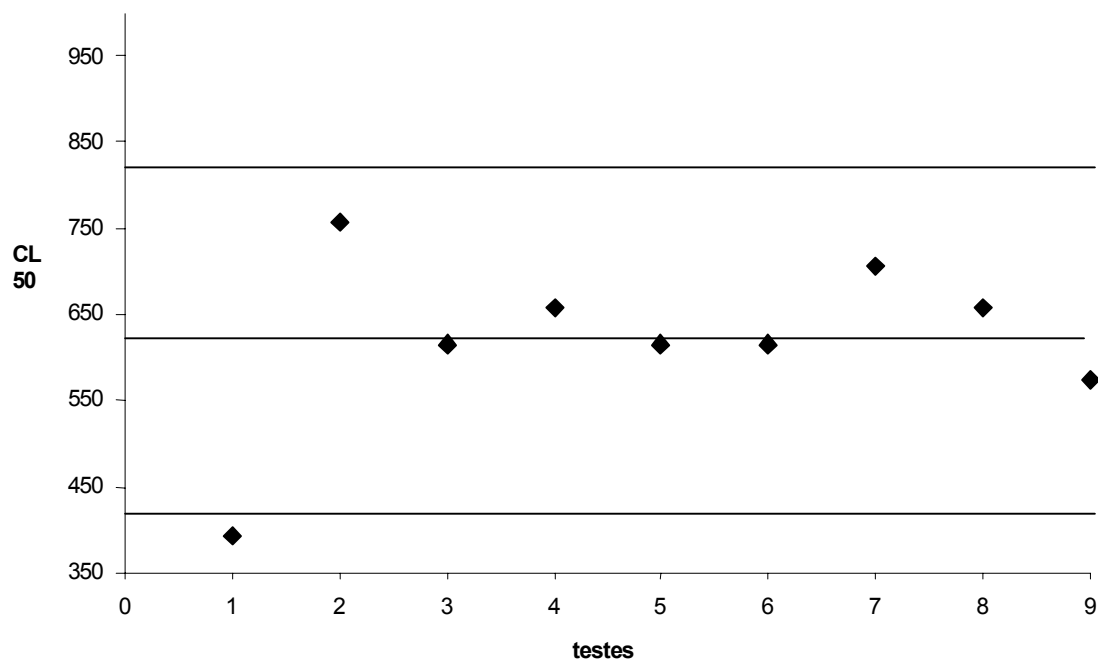


Figura 12: Variação da sensibilidade de *M. e. atlantica* ao zinco no decorrer do tempo.

Para o zinco, a fórmula obtida foi  $x CL50 \pm 2 DP = 622 \pm 204$ , e para o cobre foi  $x CL50 \pm 2 DP = 121 \pm 36$ . O intervalo definido pela fórmula acima, de 418 µg/l a 826 µg/l para o zinco, mostra que dos nove testes realizados, apenas o primeiro deles, com o valor de 393 µg/l, ficou fora dos limites de sensibilidade estabelecidos. Para o cobre, o intervalo definido foi de 85 µg/l a 157 µg/l, todos dentro dos limites.

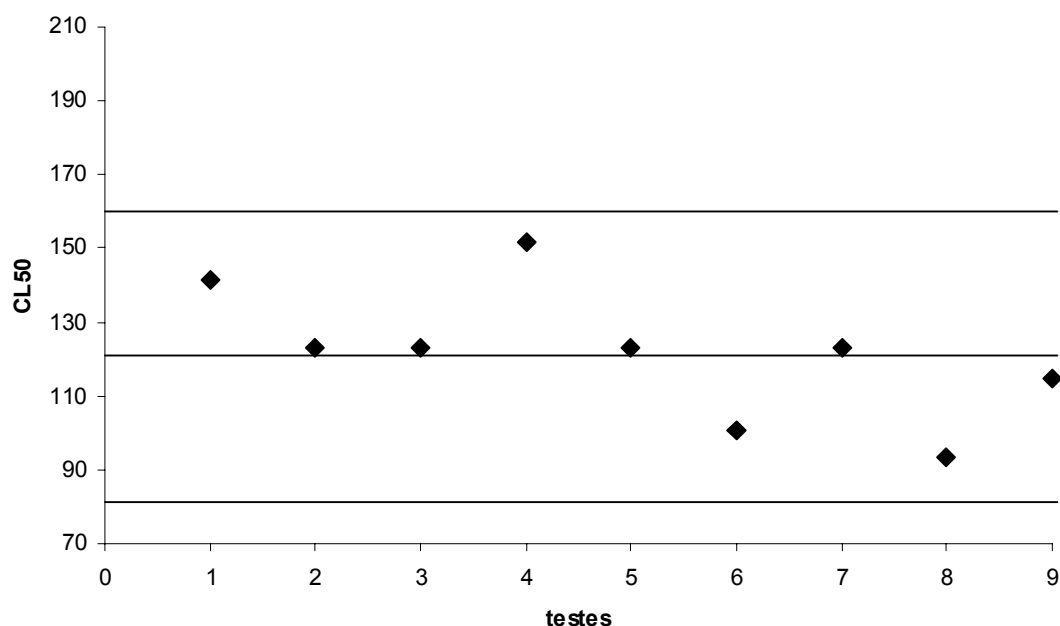


Figura 13: Variação da sensibilidade de *M. e. atlantica* ao cobre no decorrer do tempo.

Os valores de CENO (Concentração de Efeito Não Observado) e CEO (Concentração de Efeito Observado) que representam, respectivamente, a concentração máxima onde não há mortalidade dos organismos, e a concentração mínima onde começa a haver mortalidade, e que seja significativamente diferente dos controles, foram calculados para as substâncias de referência.

Os testes realizados com zinco obtiveram CENO igual a 125  $\mu\text{g/l}$  e CEO de 250  $\mu\text{g/l}$ , enquanto que os resultados para o cobre foram CENO de 25  $\mu\text{g/l}$  e CEO de 50  $\mu\text{g/l}$ .

As figuras 14 e 15 representam as curvas dose-resposta obtidas nos testes de sensibilidade com zinco e cobre (T1 a T9). As curvas referentes ao zinco apresentaram uma pequena variação ao longo das concentrações, porém, mantiveram a tendência de aumento da mortalidade de organismos com o aumento do composto, e se assemelharam quando atingem o máximo valor de mortalidade e concentração. As curvas referentes ao cobre também apresentaram variabilidade, principalmente nas concentrações medianas, se assemelhando a partir de 200  $\mu\text{g/l}$ , até atingirem mortalidade total.

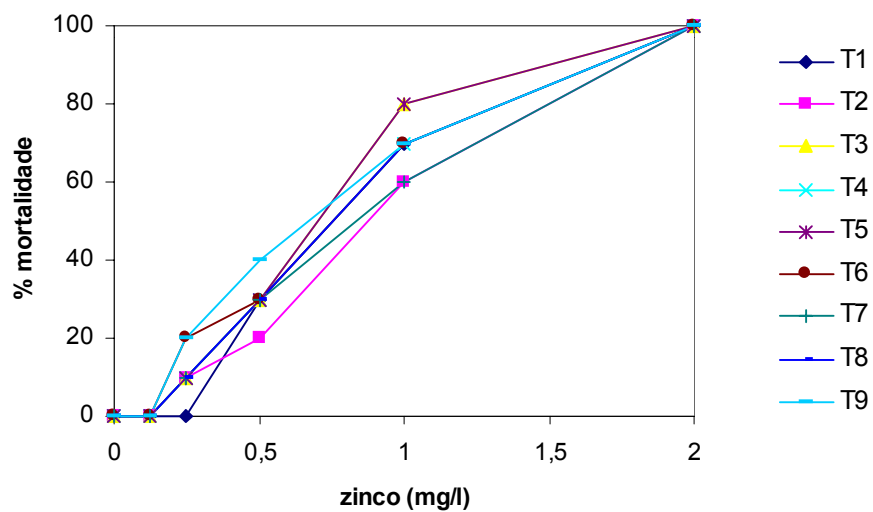


Figura 14: Curva dose-resposta dos testes de sensibilidade de *M. e. atlantica* ao zinco.

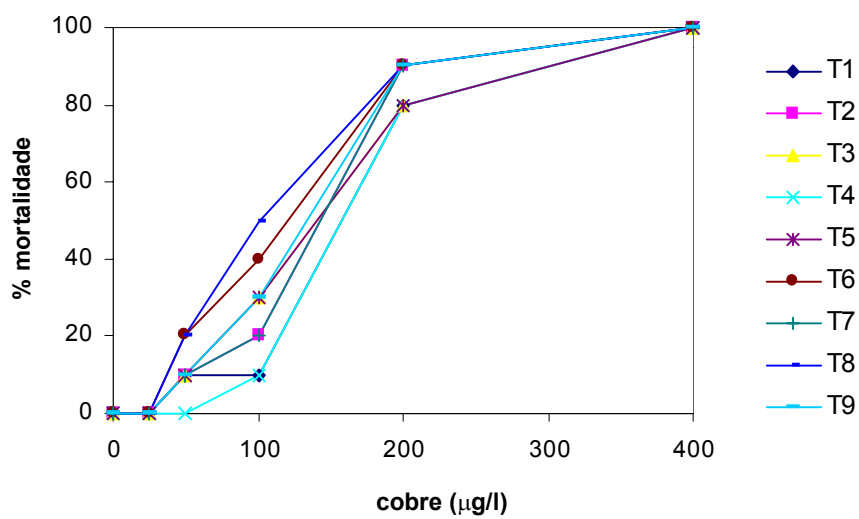


Figura 15: Curva dose-resposta dos testes de sensibilidade de *M. e. atlantica* ao cobre.



### 5.3. Testes de toxicidade com benzeno e tolueno

Os testes de exposição aguda de juvenis de *M. e. atlantica* realizados com benzeno apresentaram CL50(48h) entre 89 µg/l e 101 µg/l, com um valor médio de 95 µg/l (DP=4,5). O CV entre os testes foi de 4,7%. Para o tolueno, a CL50(48h) média foi de 235 µg/l (DP=5,4), com valores entre 229 µg/l e 244 µg/l, e CV de 2,3% (Tabela 5).

Tabela 5: Resultados da CL50(48h) obtidos nos testes agudos com benzeno e tolueno conduzidos com *M. e. atlantica*. O intervalo de confiança de 95% é apresentado entre parênteses. DP=desvio padrão. CV=coeficiente de variação.

| Testes       | Benzeno CL50(48h) µg/l | Tolueno CL50(48h) µg/l |
|--------------|------------------------|------------------------|
| 1            | 89 (70-114)            | 232 (213-254)          |
| 2            | 101 (83-123)           | 235 (214-256)          |
| 3            | 93 (74-118)            | 236 (218-255)          |
| 4            | 96 (79-117)            | 233 (215-252)          |
| 5            | 93 (74-118)            | 232 (211-254)          |
| 6            | 98 (77-125)            | 244 (223-268)          |
| 7            | 89 (70-114)            | 229 (212-248)          |
| 8            | 93 (72-119)            | 244 (223-268)          |
| 9            | 101 (83-123)           | 232 (213-254)          |
| Média        | 95                     | 235                    |
| Valor Mínimo | 89                     | 229                    |
| Valor Máximo | 101                    | 244                    |
| DP           | 4,5                    | 5,4                    |
| CV (%)       | 4,7                    | 2,3                    |

Os testes realizados com benzeno obtiveram CENO igual a 25  $\mu\text{g/l}$  e CEO de 50  $\mu\text{g/l}$ , enquanto que os resultados para o tolueno foram CENO de 170  $\mu\text{g/l}$  e CEO de 200  $\mu\text{g/l}$ .

As figuras 16 e 17 representam as curvas dose-resposta obtidas nos testes de toxicidade com benzeno e tolueno (T1 a T9). As curvas referentes ao benzeno são bastante semelhantes, confirmando os resultados obtidos com os índices baixos de desvio padrão e coeficiente de variação. As curvas referentes ao tolueno apresentam maior variabilidade, principalmente nas concentrações medianas, porém a proporção direta entre concentração e mortalidade é mantida, igualando as curvas nos valores máximos de ambas as variáveis.

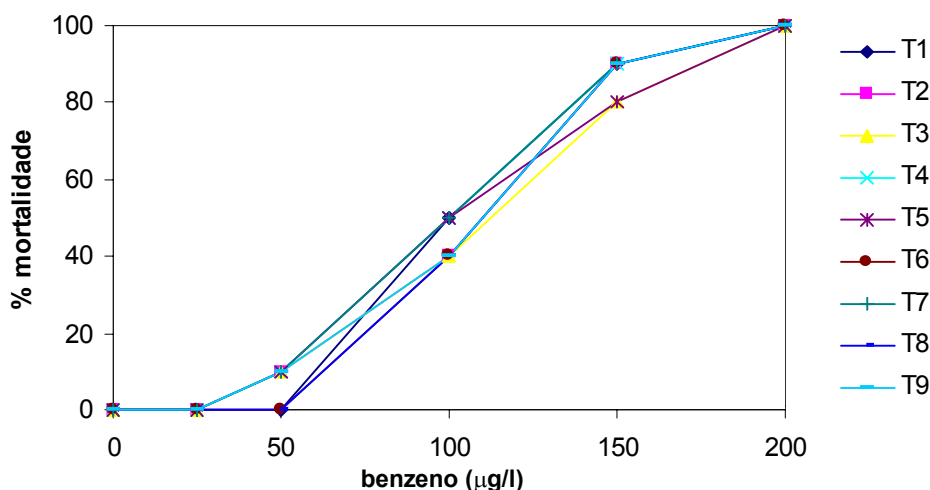


Figura 16: Curva dose-resposta dos testes de sensibilidade de *M. e. atlantica* ao benzeno.

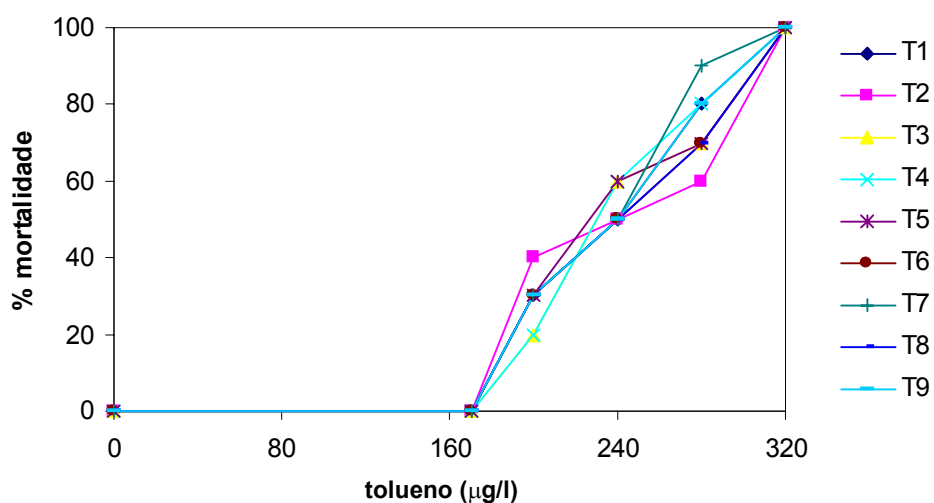


Figura 17: Curva dose-resposta dos testes de sensibilidade de *M. e. atlantica* ao tolueno.

## 6. DISCUSSÃO

A espécie *Metamysidopsis elongata atlantica* ocorre em determinados locais do litoral de Santa Catarina, com características muito específicas de morfodinâmica praial, granulometria de sedimento e aporte de matéria orgânica. As populações são monoespecíficas, facilitando a triagem do material coletado, porém muitas espécies zooplantônicas são conjuntamente capturadas, evidenciando uma riqueza de diversidade em seu habitat.

O cultivo de laboratório seguiu uma metodologia estabelecida com modificações visando encontrar a melhor fórmula para que possibilitasse uma produção considerável de organismos-teste que abastecessem o laboratório para a realização dos experimentos.

LUSSIER *et al.* (1988) cultivou três espécies de misidáceos do gênero *Mysidopsis*, baseado num tipo de sistema fechado de recirculação de água, com filtro biológico que mantém os níveis de compostos nitrogenados controlados por bactérias. Em contrapartida, GAMA & ZAMBONI (1999) cultivando *M. e. atlantica*, utilizaram um tipo mais simples de sistema estático com uma renovação parcial da água e outra renovação total semanalmente. Essa escolha foi baseada na técnica padronizada pela CETESB (1992a) para *Mysidopsis juniae*, e largamente usada no Brasil por outros autores como BADARÓ-PEDROSO (1993), PRÓSPERI & BURATINI (1994) e BADARÓ-PEDROSO *et al.* (2002).

A sensibilidade dos organismos às substâncias tóxicas é afetada pela nutrição, necessidades fisiológicas, comportamento, substrato, luminosidade, etc. A integração dessas variáveis é importante tanto para a manutenção do cultivo em laboratório como também para a obtenção de melhores resultados e estabelecimento dos parâmetros utilizados nos testes de toxicidade (BUIKEMA & BENFIELD, 1979).

Neste trabalho, um dos objetivos foi seguir uma metodologia padrão de cultivo para a espécie. Testes de sobrevivência a diferentes salinidades e temperaturas não foram realizados para verificar uma melhor adaptação dos organismos ao laboratório. As taxas alimentares também seguiram as

recomendações bibliográficas, que sugerem cerca de 100 náuplios recém eclodidos para os adultos, e não mais para evitar o empobrecimento do meio de cultivo, e indicam o enriquecimento dos náuplios de *Artemia* com óleo de fígado de bacalhau, o que aumenta o valor nutricional do alimento (ZAMBONI, 2000).

Entre as diversas variáveis consideradas importantes, o alimento fornecido apresenta um efeito direto sobre o desenvolvimento dos organismos. Estudos têm mostrado que a qualidade da dieta tem efeito importante sobre o desenvolvimento, como o trabalho de JOHNS *et al.* (1981). Os autores testaram a qualidade de *Artemia* sp., de origens diversas, sobre o crescimento, a sobrevivência e a reprodução de *Mysidopsis bahia*, atribuindo as diferenças observadas nessas variáveis, principalmente às diferenças observadas no conteúdo de ácidos graxos.

Nos testes conduzidos com a espécie *Mysidopsis juniae*, BADARÓ-PEDROSO (1993) obteve uma redução no ciclo de vida de 26 para 16 dias, em função do fornecimento de uma alimentação constituída de *Artemia* sp. e a microalga *Isochrysis galbana*. Esta redução foi atribuída à melhor qualidade nutricional do alimento fornecido, relacionada ao conteúdo de ácidos graxos.

REYNIER (1995) alimentou *Mysidium gracile* apenas com náuplios de *Artemia* sp. recém eclodidos, não tendo sido adicionada nenhuma fonte enriquecedora de ácidos graxos. Segundo a autora, este fator provavelmente contribuiu para a ocorrência de um ciclo de vida longo. No presente estudo, apesar de os misidáceos terem sido alimentados com náuplios de *Artemia* sp. recém eclodidos enriquecidos com óleo de fígado de bacalhau, talvez as condições nutricionais não foram suficientemente ricas para promover o desenvolvimento desejado.

Os níveis de oxigênio dissolvido mantiveram-se dentro da faixa ideal para o cultivo, que está em torno de 7 mg/l. A aeração mantida constante possibilitou este nível de oxigenação. O pH não foi monitorado constantemente, mas os valores registrados foram satisfatórios, permanecendo em torno de 8.

O acompanhamento das fases de desenvolvimento através da observação das mudas dos misidáceos, assim como o desenvolvimento

embrionário, não puderam ser realizado por falta de equipamentos adequados, como microscópio estereoscópico. Portanto, a razão específica pela qual não houve o sucesso da implantação do cultivo em média escala no laboratório não foi detectada.

Apesar dos esforços, a produção da geração F2 em quantidade suficiente para a realização dos ensaios necessários não foi possível, devido a condições financeiras para montar uma estrutura de cultivo adequada, fazendo com que os experimentos fossem realizados apenas com a geração F1, ou seja, aquela que nasce em laboratório de fêmeas coletadas em campo. Como é desconhecida a história de vida destas fêmeas, pode de alguma forma ser refletida em diferenças individuais da prole, como a variabilidade das condições gerais dos organismos-teste.

Os experimentos foram realizados e os resultados obtidos nos testes de toxicidade aguda com substâncias de referência mostraram que *M. e. atlantica* apresentou sensibilidade dentro da faixa normalmente encontrada em comparação com outras espécies de misidáceos estudadas no Brasil ou no exterior (Tabelas 6 e 7). Os coeficientes de variação foram suficientes para a confiabilidade dos resultados.

Analisando-se a substância de referência zinco, ZAMBONI (2000) obteve CL50(96h) para a mesma espécie de 565 µg/l, enquanto LUSSIER *et al.* (1985) encontrou CL50(96h) para *Mysidopsis bahia* de 499 µg/l. O resultado deste trabalho coloca, em princípio, *M. e. atlantica* como a espécie menos sensível ao zinco, porém, conclusões definitivas sobre a ordem de sensibilidade das espécies comparadas não podem ser feitas pois há diferenças nos tratamentos empregados em cada estudo, como diferenças na temperatura de condução dos testes, que altera os valores das CL50.

Quanto ao cobre como substância de referência, ZAMBONI (2000) obteve CL50(96h) para *M. e. atlantica* de 82 µg/l, MARTIN *et al.* (1989) encontrou CL50(96h) para *Holmesimysis costata* de 170 µg/l e LUSSIER *et al.* (1985) encontrou CL50(96h) para *M. bahia* de 181 µg/l. Comparando-se as espécies com relação ao cobre, *M. e. atlantica* ocuparia a posição de maior

sensibilidade, sem levar em consideração, contudo, as diferenças na temperatura dos testes.

Tabela 6: Comparação entre a sensibilidade de cinco espécies de misidáceos ao zinco. IC = Intervalo de Confiança.

| <b>Espécies</b>               | <b>CL50(96h) <math>\mu\text{g/l}</math> (IC)</b> | <b>Autor</b>                 |
|-------------------------------|--------------------------------------------------|------------------------------|
| <b><i>M. bahia</i></b>        | 499 (350-600)                                    | LUSSIER <i>et al.</i> (1985) |
| <b><i>H. costata</i></b>      | 138 (CV = 30,7%)                                 | MARTIN <i>et al.</i> (1989)  |
| <b><i>M. juniae</i></b>       | 350 (CV = 11,4%)                                 | BADARÓ-PEDROSO (1993)        |
| <b><i>M. gracile</i></b>      | 230 (210-250)                                    | REYNIER (1995)               |
| <b><i>M. e. atlantica</i></b> | 565 (CV = 18,67%)                                | ZAMBONI (2000)               |
| <b><i>M. e. atlantica</i></b> | 622 (CV = 16,4%)                                 | Neste estudo                 |

Tabela 7: Comparação entre a sensibilidade de três espécies de misidáceos ao cobre. IC = Intervalo de Confiança.

| <b>Espécies</b>               | <b>CL50(96h) <math>\mu\text{g/l}</math> (IC)</b> | <b>Autor</b>                 |
|-------------------------------|--------------------------------------------------|------------------------------|
| <b><i>M. bahia</i></b>        | 181 (146-250)                                    | LUSSIER <i>et al.</i> (1985) |
| <b><i>H. costata</i></b>      | 170 (15-190)                                     | MARTIN <i>et al.</i> (1989)  |
| <b><i>M. e. atlantica</i></b> | 83,82 (CV = 14,13%)                              | ZAMBONI (2000)               |
| <b><i>M. e. atlantica</i></b> | 121 (CV = 14,8%)                                 | Neste estudo                 |

Entre as diversas características consideradas na escolha de um organismo a ser utilizado em testes de toxicidade, a sensibilidade para diversos elementos, compostos e substâncias, deve ser considerada. A utilização de substâncias com caracterização analítica é importante não só para seu uso como substância de referência nos testes de toxicidade mas, também, para o estabelecimento dos limites permissíveis de lançamento destas no ambiente, com fins de proteção à biota e de atender a legislação.

Os problemas toxicológicos marinhos mais urgentes do momento atual, exigem o estabelecimento de critérios e a padronização de métodos de controle da poluição visando, principalmente, estabelecer os limites máximos aceitáveis de poluentes na água do mar e prever e avaliar as possíveis consequências biológicas destes poluentes nos ecossistemas (PHAN *et al.*, 1994).

Quanto aos resultados obtidos com os compostos monoaromáticos, observou-se que para *M. e. atlantica*, os valores da legislação estão abaixo dos valores de toxicidade encontrados neste estudo. A Resolução 020/86 do CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente), tendo em vista o efeito nocivo do benzeno, estabeleceu o limite máximo que pode ser encontrado nas águas classes 1, 2 e 3 (água doce): 0,01 mg/l (CONAMA, 1992), mas não estabelece valores para as classes 5, 6 e 7 (águas salgadas e salobras).

O valor da CENO encontrado para benzeno (25 µg/l) indica que a concentração máxima tomada pela Resolução CONAMA está abaixo da concentração mínima que causa um efeito adverso, neste caso a mortalidade dos organismos. Isto significa que há um intervalo de segurança para a espécie em questão.

Com relação aos padrões de potabilidade da água, a portaria 518 do Ministério da Saúde de 25 de março de 2004 estabelece as concentrações máximas permitidas para o benzeno e tolueno como sendo 5 µg/l e 170 µg/l, respectivamente. O valor da CENO encontrado para tolueno (170 µg/l) é igual à concentração máxima para potabilidade da água, e a CEO de 200 µg/l pode estar superestimada, devido ao intervalo de concentrações escolhido quando da realização dos testes.

O objetivo do cálculo da Concentração de Efeito Não Observado e da Concentração de Efeito Observado é a comparação de cada concentração-teste com o controle experimental. A menor concentração que for significativamente diferente do controle, com base na análise estatística, é denominada CEO, e a concentração imediatamente inferior, conseqüentemente, deverá ser a maior concentração que não é significativamente diferente do controle, e será a CENO. O cálculo destas

concentrações é dependente das concentrações individuais utilizadas em testes, e não da curva derivada do conjunto dos resultados. Devido a isso, a utilização de CENO e CEO para a tomada de decisões ambientais é considerada inadequada por vários autores (CHAPMAN *et al.*, 1996).

A bibliografia sobre testes de toxicidade com compostos monoaromáticos do petróleo não é vasta, e poucas são as chances de encontrar estudos que possam ser comparativos com este, pelo organismo-teste escolhido e pelo tipo de sistema aplicado.

Analisando-se estudos com os mesmos compostos aromáticos, NIEDERLEHNER *et al.* (1998) estudaram a toxicidade aguda e crônica dos BTEXs. Segundo os autores, a CL50(48h) de benzeno e tolueno para *Ceriodaphnia dubia* foram, respectivamente, 221 $\mu$ M e 41 $\mu$ M. MARCHINI *et al.* (1993), estudando a mesma espécie, encontrou os valores de 236  $\mu$ M e 97,7  $\mu$ M. O tipo de sistema de teste aplicado pelos autores foi em sistema fechado, para minimizar a volatilização dos compostos, porém com renovação da solução-teste.

GALASSI *et al.* (1988) e TOSATO *et al.* (1993) testaram a toxicidade de alguns aromáticos sobre *Daphnia magna*, e os valores de CL50 referente ao benzeno foram muito similares para ambos, de 231  $\mu$ M descrito no primeiro trabalho, e de 223,9  $\mu$ M descrito no segundo trabalho. Os valores de CL50(48h) referente ao tolueno foram, respectivamente, 76  $\mu$ M e 69,2  $\mu$ M.

Apesar dos trabalhos citados acima terem sido conduzidos com outras espécies de microcrustáceos, de ordem diferente da de *M. e. atlantica*, percebe-se que a toxicidade mediana encontrada pelos autores para *Daphnia* (na ordem de mg/l) foi sensivelmente maior que os valores apresentados por este trabalho (expressos em  $\mu$ g/l). O tipo de sistema de teste utilizado pelos autores mantém a concentração dos compostos voláteis, além de manter uma maior qualidade da água, em relação aos níveis de oxigênio dissolvido, pH e amônia.

Levando-se em conta ainda que as CL50 encontradas neste estudo não são referentes às concentrações dissolvidas mas sim à massa colocada em solução, pois não houve dissolução completa dos compostos, a toxicidade real



de benzeno e tolueno para *M. e. atlantica* pode ser ainda maior, com valores de CL50 menores do que os encontrados.

Comparando-se as espécies *Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia magna* com *Metamysidopsis elongata atlantica*, a última seria, a princípio, mais sensível com relação aos hidrocarbonetos monoaromáticos, sem levar em conta a condução de cada teste e suas especificações.

MASTEN *et al.* (1994) determinaram a toxicidade aguda de etil benzeno para *Mysidopsis bahia*, a CL50(96h) foi de 2,6 mg/l. Segundo os autores, um sistema de fluxo contínuo, que exponha os organismos a uma concentração constante do tóxico enquanto mantém um adequado nível de oxigênio durante toda a duração do teste, é o modo mais eficiente de exposição, e deve ser bem pensado antes da condução dos testes agudos.

GLICKMAN *et al.* (1995) estudaram a toxicidade do isopropil benzeno para *Mysidopsis bahia* e encontraram valores de CL50(96h) de 1,3 mg/l, em sistema de fluxo contínuo. Esta substância, também conhecida como cumeno, é um composto orgânico aromático muito volátil, encontrado em solventes e combustível de avião. Segundo os autores, o experimento realizado não contemplou o comportamento verdadeiro do cumeno no ambiente, concluindo que o composto não apresenta perigo no ambiente aquático, devido à alta volatilidade e degradação.

Observa-se que há uma preocupação da manutenção das concentrações iniciais no sistema de fluxo contínuo, porém, a escolha da realização de testes estáticos, com apenas a inserção da concentração nominal no início do bioensaio, sem manter os frascos fechados, tentou reproduzir simplificadaamente um derrame no mar de óleo cru ou de algum derivado do petróleo que tenha em sua constituição benzeno e tolueno.

No caso de acidentes, os trabalhos mostram que a toxicidade dos compostos monoaromáticos existe apenas nas primeiras 48h. Segundo DOUGLAS *et al.* (2002), no derramamento do oleoduto OSSA II, na Bolívia em 2000, houve uma perda rápida e substancial de benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos (os BTEXs), decorrente principalmente da evaporação sofrida pela mancha, e o intemperismo fez com que houvesse uma redução do perigo maior

de risco ambiental. Isso significa que no ambiente, em caso de acidentes que levem ao derrame de substâncias que tenham em sua composição os compostos benzeno e tolueno, a toxicidade sobre a biota será observada apenas nos primeiros dias após o acidente. Devido à natureza volátil destes tóxicos, e por não haver impedimento do processo de evaporação da água para o meio aéreo, o risco maior de uma toxicidade crônica por estes compostos é mínimo.

## 7. CONCLUSÕES

*Metamysidopsis elongata atlantica* é uma espécie que ocorre ao longo do ano, concentrando-se na zona de arrebentação (de fácil acesso) como um cardume monoespecífico de misidáceos. O microcrustáceo se apresentou como um organismo-teste viável para o Estado de Santa Catarina, sendo uma espécie nativa de representatividade do litoral norte do estado. Porém, seu cultivo não foi implantado com sucesso, e para que isso aconteça, necessita ser feito um acompanhamento mais minucioso das variáveis envolvidas e melhora da infraestrutura.

A sensibilidade aos metais cobre e zinco esteve dentro dos padrões estudados para esta espécie e para outras da ordem Mysidacea, ressaltando a confiabilidade dos resultados com outras substâncias. Os coeficientes de variação foram baixos, indicando pouca variação na sensibilidade dos organismos ao longo do ano e a consistência do método utilizado.

A toxicidade aguda para os juvenis de *M. e. atlantica* apresentada pelo benzeno (95 µg/l) foi maior que a obtida pelo tolueno (235 µg/l), confirmando outros estudos com diversas espécies aquáticas. Porém, elas se mantiveram maior que os padrões exigidos pelas legislações ambientais vigentes no Brasil, Resolução nº 20 do CONAMA (1986) e Portaria 518 do Ministério da Saúde. A princípio, há um intervalo de segurança para a espécie referente ao contaminante benzeno.

O tipo de teste utilizado, diferente de todos os outros sistemas mencionados pelos diversos autores que estudam a toxicidade de compostos monoaromáticos sobre microcrustáceos, cria perspectivas para um novo campo de estudos, que visa avaliar os efeitos tóxicos destes compostos em uma situação mais próxima da realidade.

## 8. RECOMENDAÇÕES

- Diminuir os intervalos das concentrações testadas para os compostos monoaromáticos, no sentido de refinar os resultados encontrados neste trabalho;
- Testar os compostos juntos, para observar possíveis efeitos sinérgicos;
- Fazer medições das concentrações dos tóxicos durante a realização dos bioensaios, através de Cromatografia Gasosa, para obter a cinética de evaporação dos compostos;
- Acompanhar os testes com menores intervalos de tempo.

## 9. BIBLIOGRAFIA

ALMEIDA PRADO, MS. 1974. Sistemática dos Mysidacea (Crustacea) na região de Cananéia. *Bol. Inst. Oceanog.* 23:47-87.

ASTM (American Society for Testing Materials). 1992. *E 1463 – Standard Guide for Conducting Static and Flow-Through Acute Toxicity Tests with Mysids from the West Coast of the United States*. 22p.

ASTM (American Society for Testing Materials). 1996. *D 4790 – Standard Terminology of Aromatic Hydrocarbons and Related Chemicals*. 4p.

AZEVEDO, FA & CHASIN, AAM. 2003. *As bases toxicológicas da ecotoxicologia*. RiMa Editora. São Paulo. 340p.

BADARÓ, C & NIPPER, M. 1989. Efeitos agudos do lauril sulfato de sódio sobre duas espécies de crustáceos misidáceos da região de São Sebastião, SP. *Rev. Socied. Bras. Toxicol.* 2, Suplemento Especial.

BADARÓ-PEDROSO, C & NIPPER, M. 1991. Efeitos agudos do zinco sobre o crustáceo misidáceo *Mysidopsis juniae* e avaliação de taxas alimentares para testes de curta e longa duração. *Rev. Socied. Bras. Toxicol.* 4, Suplemento II. 48-54.

BADARÓ-PEDROSO, C. 1993. *Toxicidade crônica de amostras ambientais do Canal de São Sebastião e de substâncias puras a Mysidopsis juniae (Crustacea: Mysidacea)*. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil.

BADARÓ-PEDROSO, C. 1999. *Avaliação dos efeitos e identificação da toxicidade de água de produção de petróleo sobre algumas espécies marinhas*. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil.

BADARÓ-PEDROSO, C; REYNIER, MV & PRÓSPERI, VA. 2002. Testes de toxicidade aguda com misidáceos – ênfase nas espécies *Mysidopsis juniae* e *Mysidium gracile* (Crustacea: Mysidacea). In: NASCIMENTO, IA; SOUZA, ECPM & NIPPER, M. Ed. *Métodos em Ecotoxicologia Marinha: aplicações no Brasil*. São Paulo, Editora Artes Gráficas e Indústria Ltda. 123-140.

BAPTISTA, IE. 2001. *Avaliação da toxicidade de efluentes gerados em uma indústria têxtil Catarinense*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, Brasil.

BARNES, RD. 1984. Zoologia dos invertebrados. Livraria Roca. 1179 p.

BARROS, IC; SILVA, AC; FRAZÃO, HS & CASTRO, CSP. 2003. *Recomendações referentes à segurança nos laboratórios da Embrapa*

*Recursos Genéticos e Biotecnologia*. Brasília. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 36p.

BERSANO, JG. 1994. *Zooplâncton da zona de arrebentação de praias arenosas, situadas ao sul de Rio Grande, RS. Primavera de 1990, Verão de 1991*. Dissertação de Mestrado. Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, Brasil.

BERTOLETTI, E. 1990a. Toxicidade e concentração de agentes tóxicos em efluentes industriais. *Ciê. Cult.* 42(3):271-277.

BERTOLETTI, E. 1990b. *Ensaio biológicos com organismos aquáticos e sua aplicação no controle da poluição*. São Paulo. Apostila CETESB. 50p.+anexos.

BÍCEGO, MC. 1988. *Contribuição ao estudo dos hidrocarbonetos biogênicos e do petróleo no ambiente marinho*. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. 156p.

BRAGA, MC. 2000. *Acidente causa vazamento de óleo no norte: Cronologia dos vazamentos*. Disponível em: <<http://an.uol.com.br/2000/ago/02/0ger.htm>>. Acesso em 15 abril 2004.

BRETELIER, RJ; WILLIAMS, JW & BUHL, RL. 1982. Measurement of chronic toxicity using the opossum shrimp *Mysidopsis bahia*. *Hidrobiol.* 93:189-194.

CAPUZZO, JM; MOORE, MN & WIDDOWS, J. 1988. Effects of toxic chemicals in the marine environment: predictions of impacts from laboratory studies. *Aquat Toxicol.* 11:303-311.

CETESB (Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental de São Paulo) 1987. Água do Mar – Teste de toxicidade aguda com *Artemia*. *Norma Técnica L5.021*. São Paulo, CETESB. 16p.

CETESB (Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental de São Paulo) 1992a. Água do Mar – Teste de toxicidade aguda com *Mysidopsis juniae* SILVA, 1979 (Crustacea: Mysidacea). *Norma Técnica L5.251*. São Paulo, CETESB. 19p.

CETESB (Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental de São Paulo) 1992b. Água do Mar – Teste de toxicidade crônica de curta duração com *Lytechinus variegatus* Lamarck, 1816 (Echinodermata: Echinoidea). *Norma Técnica L5.250*. São Paulo, CETESB. 20p.

CETESB (Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental de São Paulo) 2003. *Tipos de Acidentes: Vazamentos de Óleo*. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/emergencia/acidentes/vazamento/vazamento.asp>>. Acesso em 16 fevereiro 2004.

CHAPMAN, PM; CALDWELL, RS & CHAPMAN, PF. 1996. A warning: NOECs are inappropriate for regulatory use. *Environ. Toxicol. Chem.* 15:77-79.

CLARK, RB. 1992. *Marine pollution*. 3.ed. Oxford, Claredon Press. 172p.

CLINE, PV; DELFINO, JJ & RAO, PSC. 1991. Partioning of aromatic constituents into water from gasoline and other complex solvent mixture. *Environ. Sci. Technol.* 25:914-920.

CMMD (Comissão Mundial sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento) 1988. *Nosso Futuro Comum*. Rio de Janeiro, RJ. Fundação Getúlio Vargas. In: SIQUEIRA, CB & DIEHL, FP. 2000. Poluição Marinha: Atos Internacionais Vigentes no Brasil. In: *XIII Semana Nacional de Oceanografia. Rio Grande. Anais.* 32-34.

CONAMA. 1992. *RESOLUÇÕES DO CONAMA 1984 A 1991*. 4ª ed. Brasília, DF.

CORSEUIL, H.X. & ALVAREZ, P.J.J. 1996. Natural bioremediation of aquifer material contaminated with gasoline-ethanol mixtures. *Rev. Microbiol.* 27(01):19-26.

COSTA, JB. 1997. *Avaliação da adequabilidade de Kalliapseudes schubartii MANÉ-GARZÓN, 1922 (Crustacea: Tanaidacea) como organismo-teste para utilização em ensaios de toxicidade de sedimentos estuarinos*. Monografia. Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, Brasil.

d'AVIGNON, A. 1993. Os perigos do derramamento de petróleo. *Ecol. Desenv.* 2(34):6-8.

DeLISLE, PF & ROBERTS, MHJr. 1988. The effect of salinity on cadmium toxicity to the estuarine mysid *Mysidopsis bahia*: role of chemical speciation. *Aquat. Toxicol.* 12:357-370.

DOUGLAS GS; OWENS, EH; HARDENSTINE J & PRINCE RC. 2002. The OSSA II Pipelina Oil Spill: the character and weathering of the spilled oil. *Spill Sci. & Technol. Bul.* 7(3-4):135-148.

ELLIOTT, AJ. 1999. Simulations of atmospheric dispersion following a spillage of petroleum at sea. *Spill Sci. & Technol. Bul.* 5(1):39-50.

EPA (UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY) 2002. *Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms*. 5 ed. Disponível em: <<http://www.epa.gov/oilspill/index.htm>>. Acesso em: 20 outubro 2003.

EPA (UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY) 1999. *Understanding oil spills and oil spill response*. Disponível em: <<http://www.epa.gov/oilspill/pdfbook.htm>>. Acesso em: 20 agosto 2001.

EVANS, MS; BATHELT, RW & RICE, CP. 1982. PCBs and other toxicants in *Mysis relicta*. *Hydrobiol.* 93:205-215.

EVANS, PJ; MANG, DT; KIM, KS & YOUNG, L. 1991. Anaerobic degradation of toluene by a denitrifying bacterium. *Appl. Environ. Microbiol.* 57(04):1139-1145.

FINKLER, R. 2002. *Avaliação do efeito tóxico de líquidos percolados sobre o sistema reprodutivo de Daphnia magna*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, Brasil. 105p.

FOLHA ONLINE. 2003. *Entenda o desastre ambiental provocado pelo Prestige na Europa*. Disponível em: <<http://www1.folha.uol.com.br/folha/ciencia/ult306u10414.shtml>>. Acesso em 05 dezembro 2003.

FRELLO, CP. 1998. *Avaliação da toxicidade aguda do pesticida Carbofuran utilizando reativos biológicos Poecilia reticulata e Daphnia magna*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, Brasil. 86p.

GALASSI, S; MINGAZZINI, M; VIGANO, L; CESARCO, D & TOSATO, ML. 1988. Approaches to modeling toxic responses of aquatic organisms to aromatic hydrocarbons. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 16:158-169.

GAMA, AMS; MONTÚ, MA & GUSMÃO, LFM. 2002. Ciclo de vida pós-marsupial e crescimento de *Metamysidopsis elongata atlantica* (CRUSTACEA, MYDIDACEA, MYSIDAE) em cultivo de laboratório. *Ilheringia, Sér. Zool.* 92(1):77-83.

GAMA AMS & ZAMBONI AJ. 1999. Aspectos da Biologia e do cultivo de *Metamysidopsis elongata atlantica* para uso em testes de toxicidade. *Nauplii.* 7:127-139.

GAMO, M.; OKA, T. & NAKANISHI, J. 2003. Ranking the risk of 12 major environmental pollutants that occur in Japan. *Chemos.* 53:277-284.

GARNACHO, E; PECK, LS & TYLER, PA. 2000. Variations between winter and summer in the toxicity of copper to a population of the mysid *Praunus flexuosus*. *Mar. Biol.* 137:631-636.

GENTILE, JH; GENTILE, SM; HAIRSTON, NGJr. & SULLIVAN, BK. 1982. The use of life-tables for evaluating the chronic toxicity of pollutants to *Mysidopsis bahia*. *Hydrobiol.* 93:179-187.



GESAMP (IMO/FAO/UNESCO/WMO/IAEA/UNEP Joint group of experts on the scientific aspects of Marine Pollution) 1990. *The state of the marine environment*. Blackwell Scientific Publications, Oxford. 146 p.

GESAMP 1993. *Impact of oil and related chemicals and wastes on the marine environment*. Rep. Stud. GESAMP, 50, 180.

GLICKMAN, AH; ALEXANDER, HC; BUCCAFUSCO, RJ; MORRIS, CR; FRANCIS, BO; SURPRENANT, DC & WARD, TJ. 1995. An evaluation of the aquatic hazard of cumene (isopropyl benzene). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 31:287-289.

GUSMÃO LFM de; GAMA AMS & MONTÚ MA .1998. Comprimentos Médios e Biomassa de *Metamysidopsis elongata atlantica* (Crustacea: Mysidacea) no campo e cultivo em laboratório. Resultados Preliminares. In: *XI Semana Nacional de Oceanografia., Rio Grande. Anais* 174-176.

GUSMÃO, LFM; GAMA, MAS & MONTÚ, MA. 1999. Variação sazonal dos comprimentos médios e biomassa de populações de *Metamysidopsis elongata* (CRUSTACEA: MYSIDACEA) da zona de arrebentação da praia do Cassino (RS – Brasil). In XII Semana Nacional de Oceanografia, Rio de Janeiro, RJ. Resumos Expandidos, 165-167.

HAMILTON, MA; RUSSO, RC & THURSTON, RV. 1977. Trimmed Spearman-Kärber Method for estimating median lethal concentration in toxicity bioassays. *Environ. Sci. Technol.*, 11(7):714-719.

HERMAN, D.C.; INNIS, W.E. & MAYFIELD, C.I. 1990. Impact of volatile aromatic hydrocarbons, alone and in combination, on growth of the freshwater alga *Selenastrum capricornutum*. *Aquat. Toxicol.* 18:87-100.

IMO (International Maritime Organization) 2003. *Prevention of Marine Pollution Conventions*. Disponível em: [http://www.imo.org/Conventions/mainframe.asp?topic\\_id=258](http://www.imo.org/Conventions/mainframe.asp?topic_id=258). Acesso em: 02 abril 2004.

IPIECA (International Petroleum Industry Environmental Conservation Association) 1991. *A Guide to Contingency Planning for Oil Spills on water*. IPIECA Report Series, v. 2. 35p.

ITOPF (The International Tanker Owners Pollution Federation) 2002. *Effects of marine oil spills: fate and effects*. Disponível em: <http://www.itopf.com/index.html>. Acesso em: 24 outubro 2002.

JURAS, IAGM. 2002. *Medidas de prevenção de acidentes com navios petroleiros*. Consultoria Legislativa, Câmara dos Deputados. 7p.

KENNISH, MJ. 1997a. Pollution impacts on marine biotic communities. Boca Raton, Florida. CRC Press Inc. 310 p.

KENNISH, MJ. 1997b. Practical Handbook of Estuarine and Marine Pollution. Boca Raton, Florida. CRC Press Inc. 524 p.

KIM, J.K.; SHIN, H.S.; LEE, J.H.; LEE, J.J. & LEE, J.H. 2003. Genotoxic effects of volatile organic compounds in a chemical factory as evaluated by the *Tradescantia* micronucleus assay and by chemical analysis. *Genot. Toxicol. Environ. Mutag.* 541:55-61.

KLEIN AHF & MENEZES JT. 2001. Beach Morphodynamics and Profile Sequence for a Headland Bay Coast. *J. Coast. Res.* 17(4):812-835.

KULKAMP, MS. 2003. *Atenuação natural de hidrocarbonetos de petróleo em um aquífero contaminado com derramamento simultâneo de óleo diesel e etanol*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, Brasil. 176p.

LAITANO, KS. 2003. *Testes de toxicidade com Daphnia magna: uma ferramenta para avaliação de um reator experimental UASB*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, Brasil. 85p.

LAITANO, KS & RESGALLA Jr., C. 2000. Uso de testes de toxicidade com larvas de *Arbacia lixula* e juvenis de *Metamysidopsis elongata atlantica* na avaliação da qualidade do sedimento dos rios Camboriú e Itajaí-Açú, Santa Catarina, Brasil. In: *Ecotoxicologia: perspectivas para o século XXI*. São Carlos, SP. 1, 29-42.

LEHR, W.J. 1996. Modeling the benzene inhalation hazard from spilled oil. *Spill Sci. & Technol. Bul.* 3(4):199-202.

LUSSIER, SM; GENTILE, JH & WALKER, J. 1985. Acute and chronic effects of heavy metals and cyanide on *Mysidopsis bahia* (CRUSTACEA: MYSIDACEA). *Aquat. Toxicol.* 7:25-35.

LUSSIER, SM; KUHN, A; CHAMMAS, MJ & SEWALL, J. 1988. Techniques for the laboratory culture of *Mysidopsis* species (CRUSTACEA: MYSIDACEA). *Environ. Toxicol. Chem.* 7:969-977.

MARCHINI, SM; HOGLUND, D; BRODERIUS, SJ & TOSATO, ML. 1993. Comparison of the susceptibility of daphnids and fish to benzene derivatives. *Sci. Total Environ.* (Suplem):799-808.

MARTIN, M; HUNT, JW; ANDERSON, BS; TURPEN, SL & PALMER, FH. 1989. Experimental evaluation of the mysid *Holmesimysis costata* as a test organism for effluent toxicity testing. *Environ. Toxicol. Chem.* 8:1003-1012.

MASTEN, LW; BOERI, RL & WALKER, JD. 1994. Strategies employed to determine the acute aquatic toxicity of ethyl benzene, a highly volatile, poorly water-soluble chemical. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 27:335-348.

MAUCHLINE, J. 1980 The Biology of mysids and euphausiids. In: Blaxter JHS; Russel RS & Yonge M eds. *Advances in Marine Biology*. London, England. Academic Press. 681 p.

MELO, SLR & ABESSA, DMS. 2002. Testes de toxicidade com sedimentos marinhos utilizando anfípodos. In: NASCIMENTO, IA; SOUZA, ECPM & NIPPER, M. Ed. *Métodos em Ecotoxicologia Marinha: aplicações no Brasil*. São Paulo, Editora Artes Gráficas e Indústria Ltda. 123-140.

MENEZES, JT. 2002. *Caracterização Morfológica e Sedimentar do segmento praias Navegantes/Gravatá e sua ação sobre os esforços de recomposição da praia*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, Brasil. 114 p.

MICHEL, J. 1992. Oil Behavior and Toxicity. In: HAYES, MO; HOFF, R; MICHEL, J; SCHOLZ, D & SHIGENAKA, G. 1992. *An introduction to coastal habitats and biological resources for oil spill response* Hazardous Materials Response and Assessment Division – National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA). Disponível em: <<http://www.noaa.gov/index.html>>. Acesso em: 16 outubro 2001.

MILANI, EJ; BRANDÃO, JASL; ZALÁN, PV & GAMBOA, LAP. 2000. Petróleo na Margem Continental Brasileira: Geologia, Exploração, Resultados e Perspectivas. *Rev. Bras. Geofís.* 18(3):351-396.

MILLER, DC; POUCHER, JA; CARDIN, JA & HANSEN, D. 1990. The acute and chronic toxicity of ammonia to marine fish and a mysid. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 19:40-48.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. 2004. *Portaria nº 518, de 25 de março de 2004*.

MORRISON, G; TORELLO, E; COMELeo, R; WALSH, R; KUHN, RB; BURGESS, R; TAGLIABUE, M & GREENE, W. 1989. Intralaboratory precision of saltwater short-term chronic toxicity test. *Res. J. Wat. Pollut. Control Fed.* 61:11-12.

MORRISON, RT & BOYD, RN. 1993. *Química Orgânica, 10 ed.* trad. de M. Alves da Silva. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian. 1639p.

NASCIMENTO, IA. 2002. Testes de toxicidade com embriões da ostra *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828). In: NASCIMENTO, IA; SOUZA, ECPM & NIPPER, M. Ed. *Métodos em Ecotoxicologia Marinha: aplicações no Brasil*. São Paulo, Editora Artes Gráficas e Indústria Ltda. 123-140.

NEIVA, J. 1986. *Conheça o Petróleo, 5 ed.* Rio de Janeiro, Ao Livro Técnico. 306p.

NIEDERLEHNER, BR; CAIRNS Jr, J & SMITH, EP. 1998. Modeling acute and chronic toxicity of nonpolar narcotic chemicals and mixtures to *Ceriodaphnia dubia*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 39:136-146.

NIMMO, DR & HAMAKER, TL (1982) Mysids in toxicity tests – a review. *Hydrobiol.* 93:171-178.

NIPPER, M. 2002. Avaliação de toxicidade com os copépodos calanóides *Acartia lilljeborgi* (Giesbrecht, 1892) e *Temora stylifera* (Dana, 1852). In: NASCIMENTO, IA; SOUZA, ECPM & NIPPER, M. Ed. *Métodos em Ecotoxicologia Marinha: aplicações no Brasil*. São Paulo, Editora Artes Gráficas e Indústria Ltda. 123-140.

NRC (National Research Council) 1985. *Oil in the sea, inputs, fates and effects*. Washington, DC. National Academy Press. 602p.

PALADINO, EE. 2000. *Modelagem matemática e simulação de trajetórias de derrames de petróleo no mar*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, Brasil. 110p.

PEDROZO, MFM; BARBOSA, EM; CORSEUIL, HX; SCHNEIDER, MR & LINHARES, MM. 2002. *Ecotoxicologia e avaliação de risco do petróleo*. Centro de Recursos Ambientais, Salvador. 229p.

PEDROZO, MFM & SIQUEIRA, MEPB. 1989. Solventes de cola: abuso e efeitos nocivos à saúde. *Rev. Saúde Públ.* 23:336-340.

PHAN, VN; GOMES, V & PASSOS, MJACR. 1994. Avaliação prévia da toxicidade de um efluente simulado derivado de petróleo sobre *Promysis atlantica* (Crustacea, Mysidacea). *Bolm. Inst. Oceanogr.*, 42(1/2): 129-141.

POFFO, IRF; NAKASAKI, A; EYSINK, GGJ; HEITZMANN, SR; CANTÃO, RF; MIDAGLIA, CLV; CAETANO, NA; SERPA, RR; AVENTURATO, H & POMPÉIA, SL. 1996. *Dinâmica dos vazamentos de óleo no Canal de São Sebastião*. São Paulo. CETESB. 2v. 92p.

POFFO, IRF; XAVIER, JCM & SERPA, RR. 2001. 27 anos de vazamentos de óleo no litoral norte do estado de São Paulo (1974-2000). *Rev. Meio Amb. Indust.* 30:98-104.

POSTHUMA, J. 1997. The composition of petroleum. *Rapp. Reun. Cons. Perm. Int. Explor. Mer.* 171:7-16.

PRÓSPERI, VA & BURATINI, SV. 1994. Cultivo de *Mysidopsis juniae* em laboratório para utilização em testes de toxicidade. In: *I Simpósio Latino*

*Americano de Saúde de Ecossistemas Aquáticos e Significados Ecológicos de Bioensaios, São Carlos, Resumos. 89.*

PRÓSPERI, VA; NIPPER, M & BURATINI, SV. 1994. *Desenvolvimento de metodologia de cultivo e testes de toxicidade com organismos marinhos. Relatório Técnico. CETESB, SP. 20p.*

RAND, GM; WELLS, PG & MCCARTY, LS. 1995. Introduction to aquatic toxicology. In: RAND, GM ed. *Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environment fate, and risk assessment*. 2.ed. Taylor & Francis, Florida. 3-66.

REYNIER, MV. 1995. *Aspectos do ciclo de vida de Mysidium gracile (Dana, 1852) (Crustacea-Mysidacea) e um estudo sobre a sua adequação para testes de toxicidade com hidrocarbonetos*. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil. 95p.

RICHARDS, JH; CRAM, DJ & HAMMOND, GS. 1971. *Elementos de Química Orgânica*. trad. e adapt. de J. A. Alonso Folgueira & F. J. Aguilar Bartolome. Mexico, Libros McGraw-Hill, 476p.

ROAST, SD; WIDDOWS, J & JONES, MB. 2001. Impairment of mysid (*Neomysis integer*) swimming ability: an environmentally realistic assesment of the impact of cadmium exposure. *Aquat. Toxicol.* 52:217-227.

ROBERTS, MHJr.; WARINNER, EJ; CHU-FA, T; WRIGHT, D & CRONIN, EL. 1982. Comparision of estuarine species sensitivities to three toxicants. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 11:681-692.

SALGADO, PET & PEZZAGNO, G. 1991. Indicadores biológicos de exposição ao benzeno. *Rev. Bras. Saúde Ocup.* 19:25-31.

SCHIMMEL, SC, MORRISON, GE & HEBER, MA. 1989. Marine complex effluent toxicity program: test sensitivity, repeatability and relevance to receiving water toxicity. *Environ. Toxicol. Chem.* 8(8):739-746.

SIQUEIRA, CB & DIEHL, FP. 2000. Poluição Marinha: Atos Internacionais Vigentes no Brasil. In: *XIII Semana Nacional de Oceanografia. Rio Grande. Anais.* 32-34.

SOUZA, ECPM. 2002. Métodos em ecotoxicologia marinha: aplicações no Brasil. In: NASCIMENTO, IA; SOUZA, ECPM & NIPPER, M ed. *Métodos em ecotoxicologia marinha*. Ed. Artes Gráficas e Indústria Ltda, São Paulo. 9-14.

SSTA - UFPR (Sistema de Segurança do Trabalho e Ambiente – Universidade Federal do Paraná) 2003. *Benzeno e Tolueno*. Disponível em: <<http://sstu.quimica.ufpr.br/>>. Acesso em: 20 outubro 2003.

TOSATO, ML; PINO, A; PASSERINI, L; MARCHINI, SM; VIGANO, L & HOGLUND, M. 1993. Updating and validation of a daphnia toxicity model for benzene derivates. *Sci. Total Environ.* (Suplem):1479-1490.

WHO (World Health Organization). 1996. *Occupational Health for all Biological Monitoring of Chemical Exposure in the Workplace*. World Health Organization. Geneva. 292p.

ZAMBONI, AJ. 1993. *Avaliação da qualidade de água e de sedimentos do canal de São Sebastião através de testes de toxicidade com Lytechinus variegatus (Equinodermata: Echinoidea)*. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil. 153p.

ZAMBONI, AJ. 2000. *Caracterização ecotoxicológica do estuário da Lagoa dos Patos no entorno de Rio Grande, RS: fundamentos e técnicas*. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo São Carlos, Brasil. 185p.

ZAMBONI, AJ. & COSTA, JB. 2002. Testes de toxicidade com sedimentos marinhos utilizando tanaidáceos. In: NASCIMENTO, IA; SOUZA, ECPM & NIPPER, M. Ed. *Métodos em Ecotoxicologia Marinha: aplicações no Brasil*. São Paulo, Editora Artes Gráficas e Indústria Ltda. 123-140.

ZANARDI, E. 1996. *Hidrocarbonetos no canal de São Sebastião e na plataforma interna adjacente – influência do derrame de maio de 1994*. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

ZARONI, LP. 2002. Testes de toxicidade com embriões do mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758). In: NASCIMENTO, IA; SOUZA, ECPM & NIPPER, M. Ed. *Métodos em Ecotoxicologia Marinha: aplicações no Brasil*. São Paulo, Editora Artes Gráficas e Indústria Ltda. 123-140.

## **ANEXO**

### **Planilha de controle de teste**

|                  |     | % Mortalidade |           |          |          |          |
|------------------|-----|---------------|-----------|----------|----------|----------|
| Testes com zinco |     | 0,125 mg/l    | 0,25 mg/l | 0,5 mg/l | 1,0 mg/l | 2,0 mg/l |
| 1                | 48h | 0             | 0         | 10       | 30       | 50       |
|                  | 96h | 0             | 0         | 30       | 70       | 100      |
| 2                | 48h | 0             | 0         | 10       | 20       | 60       |
|                  | 96h | 0             | 10        | 20       | 60       | 100      |
| 3                | 48h | 0             | 0         | 10       | 30       | 50       |
|                  | 96h | 0             | 10        | 30       | 80       | 100      |
| 4                | 48h | 0             | 0         | 20       | 30       | 40       |
|                  | 96h | 0             | 10        | 30       | 70       | 100      |
| 5                | 48h | 0             | 0         | 20       | 30       | 60       |
|                  | 96h | 0             | 10        | 30       | 80       | 100      |
| 6                | 48h | 0             | 0         | 10       | 40       | 70       |
|                  | 96h | 0             | 20        | 30       | 70       | 100      |
| 7                | 48h | 0             | 0         | 20       | 30       | 50       |
|                  | 96h | 0             | 10        | 30       | 60       | 100      |
| 8                | 48h | 0             | 0         | 10       | 40       | 60       |
|                  | 96h | 0             | 10        | 30       | 70       | 100      |
| 9                | 48h | 0             | 0         | 10       | 30       | 50       |
|                  | 96h | 0             | 20        | 40       | 70       | 100      |



|                  |     | % Mortalidade |         |          |          |          |
|------------------|-----|---------------|---------|----------|----------|----------|
| Testes com cobre |     | 25 µg/l       | 50 µg/l | 100 µg/l | 200 µg/l | 400 µg/l |
| 1                | 48h | 0             | 0       | 10       | 50       | 70       |
|                  | 96h | 0             | 10      | 10       | 80       | 100      |
| 2                | 48h | 0             | 0       | 10       | 40       | 60       |
|                  | 96h | 0             | 10      | 20       | 90       | 100      |
| 3                | 48h | 0             | 0       | 10       | 30       | 40       |
|                  | 96h | 0             | 10      | 30       | 80       | 100      |
| 4                | 48h | 0             | 0       | 0        | 40       | 50       |
|                  | 96h | 0             | 0       | 10       | 80       | 100      |
| 5                | 48h | 0             | 0       | 20       | 40       | 60       |
|                  | 96h | 0             | 10      | 30       | 80       | 100      |
| 6                | 48h | 0             | 10      | 20       | 50       | 70       |
|                  | 96h | 0             | 20      | 40       | 90       | 100      |
| 7                | 48h | 0             | 0       | 0        | 30       | 60       |
|                  | 96h | 0             | 10      | 20       | 90       | 100      |
| 8                | 48h | 0             | 10      | 20       | 40       | 50       |
|                  | 96h | 0             | 20      | 50       | 90       | 100      |
| 9                | 48h | 0             | 0       | 20       | 50       | 70       |
|                  | 96h | 0             | 10      | 30       | 90       | 100      |

|                    |     | % Mortalidade |         |          |          |          |
|--------------------|-----|---------------|---------|----------|----------|----------|
| Testes com benzeno |     | 25 µg/l       | 50 µg/l | 100 µg/l | 150 µg/l | 200 µg/l |
| 1                  | 24h | 0             | 0       | 20       | 50       | 80       |
|                    | 48h | 0             | 0       | 50       | 90       | 100      |
| 2                  | 24h | 0             | 0       | 20       | 40       | 70       |
|                    | 48h | 0             | 10      | 40       | 90       | 100      |
| 3                  | 24h | 0             | 0       | 20       | 40       | 90       |
|                    | 48h | 0             | 10      | 40       | 80       | 100      |
| 4                  | 24h | 0             | 10      | 30       | 50       | 100      |
|                    | 48h | 0             | 10      | 50       | 90       | 100      |
| 5                  | 24h | 0             | 10      | 30       | 40       | 90       |
|                    | 48h | 0             | 10      | 50       | 80       | 100      |
| 6                  | 24h | 0             | 0       | 30       | 60       | 70       |
|                    | 48h | 0             | 0       | 40       | 90       | 100      |
| 7                  | 24h | 0             | 10      | 20       | 50       | 80       |
|                    | 48h | 0             | 10      | 50       | 90       | 100      |
| 8                  | 24h | 0             | 0       | 10       | 40       | 100      |
|                    | 48h | 0             | 0       | 40       | 90       | 100      |
| 9                  | 24h | 0             | 0       | 20       | 40       | 80       |
|                    | 48h | 0             | 10      | 40       | 90       | 100      |

|                    |     | % Mortalidade |          |          |          |          |
|--------------------|-----|---------------|----------|----------|----------|----------|
| Testes com tolueno |     | 170 µg/l      | 200 µg/l | 240 µg/l | 280 µg/l | 320 µg/l |
| 1                  | 24h | 0             | 10       | 30       | 50       | 70       |
|                    | 48h | 0             | 30       | 50       | 80       | 100      |
| 2                  | 24h | 0             | 20       | 20       | 30       | 90       |
|                    | 48h | 0             | 40       | 50       | 60       | 100      |
| 3                  | 24h | 0             | 10       | 30       | 40       | 90       |
|                    | 48h | 0             | 20       | 60       | 70       | 100      |
| 4                  | 24h | 0             | 0        | 40       | 40       | 100      |
|                    | 48h | 0             | 20       | 60       | 80       | 100      |
| 5                  | 24h | 0             | 20       | 30       | 30       | 80       |
|                    | 48h | 0             | 30       | 60       | 70       | 100      |
| 6                  | 24h | 0             | 10       | 20       | 40       | 90       |
|                    | 48h | 0             | 30       | 50       | 70       | 100      |
| 7                  | 24h | 0             | 20       | 30       | 50       | 100      |
|                    | 48h | 0             | 30       | 50       | 90       | 100      |
| 8                  | 24h | 0             | 10       | 30       | 50       | 90       |
|                    | 48h | 0             | 30       | 50       | 70       | 100      |
| 9                  | 24h | 0             | 10       | 40       | 40       | 80       |
|                    | 48h | 0             | 30       | 50       | 80       | 100      |